

**Walter Soares Fernandes**

**Respostas de defesa e resistência induzida por ulvana à antracnose  
(*Colletotrichum lindemuthianum*) em cultivares de feijoeiro comum  
(*Phaseolus vulgaris* L.)**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina.

Orientador: Prof. Dr. Marciel J. Stadnik

Co-Orientador: Dr. Luis Aquiles Medeiros

**Florianópolis, 2007**

Fernandes, W. S.

Respostas de defesa e resistência induzida por ulvana à antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) em cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) / Walter Soares Fernandes – Florianópolis, 2007.

xii, ... f.

Dissertação (Mestrado) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina.

1. . 2. . 3. . 4. . 5. . 6..

CDU -

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO (MESTRADO) EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS**

**TERMO DE APROVAÇÃO**

**Respostas de defesa e resistência induzida por ulvana à antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) em cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.)**

Dissertação submetida por **Walter Soares Fernandes** como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais, CCA - UFSC.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Dr. João Américo Wordell Filho

---

Prof. Dr. Robson Marcelo Di Piero

---

Prof. Dr. Marciel J. Stadnik  
(Presidente)

**Aprovada em .....**

---

Prof. Dr. Marciel J. Stadnik  
Orientador

---

Prof. Dr. Afonso Inácio Orth  
Coordenador do Curso

## AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais (RGV) da Universidade Federal de Santa Catarina pela oportunidade;

Ao Professor Marciel João Stadnik, pela orientação, incentivo e auxílio em todas as etapas do trabalho;

Ao Professor Luis Aquiles Martins Medeiros, pela co-orientação, incentivo e auxílio nas etapas do trabalho;

Aos Professores do Curso, pelo estímulo e ensinamentos;

À direção da Escola Agrotécnica Federal de Rio do Sul, pela oportunidade desta realização profissional;

Ao Professor Oscar Hartmann pelo incentivo e orientações na etapa inicial dos trabalhos;

Aos colegas da Escola Agrotécnica Federal de Rio do Sul, pelo incentivo e apoio;

Ao técnico Leandro Borsato, colegas e amigos do Laboratório de Fitopatologia do Centro de Ciências Agrárias pelos ensinamentos e convivência;

Aos profissionais e amigos, Murilo Dalla Costa e Elena Setelich pelo auxílio inestimável na condução de parte do trabalho;

Às bibliotecárias do CCA pelo atendimento e orientações;

Ao meu irmão Marcelo Soares Fernandes pelas orientações e incentivo;

A todos os que de alguma forma colaboraram nas diferentes etapas deste trabalho;

Aos meus parentes pela acolhida;

A minha esposa Iolanda, pelo apoio incondicional e as filhas Sissi e Mônica e genros Paulo e Fabiano pela compreensão das ausências ao longo desta jornada;

A meus pais (a minha mãe *in memoriam*);

A Deus.

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS .....	vi
LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE ANEXOS .....	ix
RESUMO.....	xii
ABSTRACT .....	xiii
<b>1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>2</b>
2.1 <i>Objetivo geral</i> .....	2
2.2 <i>Objetivos específicos</i> .....	2
<b>3. HIPÓTESE.....</b>	<b>2</b>
<b>4. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>3</b>
4.1 <i>Cultura do feijoeiro</i> .....	3
4.2 <i>Antracnose do feijoeiro</i> .....	4
4.3 <i>Processo de infecção de Colletotrichum lindemuthianum</i> .....	5
4.4 <i>Controle da antracnose do feijoeiro</i> .....	7
4.5 <i>Indução de resistência</i> .....	8
4.6 <i>Uso de algas marinhas</i> .....	10
<b>5. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>13</b>
5.1 <i>Condições de cultivo de feijoeiro</i> .....	13
5.2 <i>Obtenção de ulvana</i> .....	14
5.3 <i>Aplicação de ulvana</i> .....	15
5.4 <i>Origem, manutenção e produção do inóculo</i> .....	16
5.5 <i>Inoculação das plantas com Colletotrichum lindemuthianum</i> .....	17
5.6 <i>Medidas foliares</i> .....	17
5.7 <i>Avaliação da severidade da antracnose</i> .....	17
5.8 <i>Preparo e análise microscópica de discos foliares</i> .....	18
5.9 <i>Delineamento experimental e análise estatística</i> .....	19

<b>6. RESULTADOS .....</b>	<b>21</b>
<i>6.1 Medidas foliares.....</i>	<i>21</i>
<i>6.2 Efeito sobre a severidade da antracnose.....</i>	<i>23</i>
<i>6.3 Efeito sobre o número de lesões.....</i>	<i>24</i>
<i>6.3.1 Efeito local.....</i>	<i>24</i>
<i>6.3.2 Efeito sistêmico.....</i>	<i>27</i>
<i>6.4 Efeito sobre o comprimento de lesões .....</i>	<i>29</i>
<i>6.4.1 Efeito local.....</i>	<i>29</i>
<i>6.4.2 Efeito sistêmico.....</i>	<i>31</i>
<i>6.5 Germinação de conídios, formação de apressórios de Colletotrichum lindemuthianum e reação de hipersensibilidade .....</i>	<i>33</i>
<b>7. DISCUSSÃO .....</b>	<b>37</b>
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>45</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>53</b>

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Caracterização e evolução dos estádios fenológicos vegetativos para a cultura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), cultivado em condições de casa-de-vegetação nos meses de setembro a outubro, no Centro de Ciências Agrárias (CCA), UFSC..... 14
- Tabela 2.** Escala de avaliação (descritiva) para a antracnose do feijoeiro..... 18
- Tabela 3.** Comprimentos das nervuras primária, secundária, terciária e total, obtidos de folíolos do segundo trifólio de cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), Uirapuru e Mouro Graúdo, aos 11 dai, no estágio fenológico V4. .... 21
- Tabela 4.** Coeficientes de determinação entre as medidas reais de áreas foliolares e as dimensões, comprimento, largura e suas relações, em folíolos de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*) cultivares, Uirapuru e Mouro Graúdo. .... 23
- Tabela 5.** Efeito da aplicação de ulvana (10mg/mL), no controle da antracnose de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*), na segunda folha trifoliolada de cultivares Uirapuru e Mouro Graúdo, aos 9 dai, no estágio fenológico V4..... 24

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Diagrama ilustrativo de uma folha trifoliolada de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) onde foram avaliados o efeito local (FD: folíolo direito e FE: folíolo esquerdo) e o efeito sistêmico (FC: folíolo central, protegido com saco plástico) no controle da antracnose.. ..... 15
- Figura 2.** Regressões lineares entre o produto (acima) e a soma (abaixo) do comprimento pela largura e a área foliolar real, em plantas de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), cvs. Uirapuru (A e C) e Mouro Graúdo (B e D), aos 15 dai, no estágio fenológico V4, 36 dias após a semeadura..... 22
- Figura 3.** Efeito local do tratamento com ulvana (10mg/mL), 6 e 3 dias antes da inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*, sobre o número de lesões necróticas de antracnose nas nervuras primárias de folíolos laterais de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) cvs. Uirapuru (Ur) e Mouro Graúdo (MG) e nas secundárias, terciárias e em todas as nervuras dos dois cultivares (Ur + MG), avaliadas aos 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4..... 26
- Figura 4.** Efeito sistêmico do tratamento com ulvana (10mg/mL), 6 e 3 dias antes da inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*, sobre o número de lesões necróticas de antracnose na nervura secundária e em todas as nervuras do folíolo central de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) cvs. Uirapuru mais Mouro Graúdo (Ur + MG), avaliadas aos 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4..... 28
- Figura 5.** Lesões necróticas de antracnose, de cor marrom-escura, nas nervuras primária, secundária e terciária da face abaxial de folíolo central do segundo trifólio de cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*), Uirapuru (A) e Mouro Graúdo (B), 14 dai com *Colletotrichum lindemuthianum*. ..... 28
- Figura 6.** Efeito local do tratamento com ulvana (10mg/mL), 6 e 3 dias antes da inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*, sobre o comprimento de lesões necróticas de antracnose, nas nervuras primária, secundária, terciária e em todas as nervuras dos folíolos laterais de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) cvs. Uirapuru mais Mouro Graúdo (Ur + MG), avaliado aos 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4. . 30
- Figura 7.** Efeito sistêmico do tratamento com ulvana (10mg/mL), 6 e 3 dias antes da inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*, sobre o comprimento de lesões necróticas de antracnose, nas nervuras secundárias do folíolo central de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) cvs. Uirapuru (Ur) e Mouro Graúdo (MG) e nas primárias, terciárias e em todas as nervuras dos dois cultivares (Ur + MG), avaliado aos 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4. .... 32
- Figura 8.** Conídio, estruturas de infecção de *Colletotrichum lindemuthianum* e reação de hipersensibilidade, desenvolvidos na superfície abaxial do 2º trifólio de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), cultivares Uirapuru, Mouro Graúdo e Valente, visualizados, 48 hai, por meio de microscopia óptica (480x). ..... 33



**Figura 9.** Diagramas de caixa da porcentagem de conídios germinados de *Colletotrichum lindemuthianum* (A - acima) e dos apressórios formados (B - abaixo) sobre folíolos de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) cvs. Mouro Graúdo, Uirapuru e Valente, no estágio fenológico V4, 48 hai. ....35

**Figura 10.** Reação de hipersensibilidade em células de folíolos laterais de três cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), Uirapuru, Mouro Graúdo e Valente, previamente tratados com ulvana (10mg/mL), 6 e 3 dias antes da inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*, avaliada em microscópio óptico (480x), 48 hai, no estágio fenológico V4. ....36

## LISTA DE ANEXOS

- Anexo 1.** Análise de variância das notas atribuídas ao segundo trifólio dos cultivares Uirapuru e Mouro Graúdo, pela escala de avaliação para antracnose do feijoeiro proposta por Tamayo (1995), 9 dai, no estágio fenológico V4..... 54
- Anexo 2.** Número de lesões necróticas de antracnose, nas nervuras primária, secundária, terciária e na soma de todas as nervuras, em folíolos laterais (efeito local) de cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), Uirapuru (acima) e Mouro Graúdo (abaixo), previamente tratados com ulvana (10mg/mL), 6 e 3 dias antes da inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*, avaliada aos 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4. . 55
- Anexo 3.** ANOVA de dados de pré-tratamentos com ulvana (10mg/mL), 6 e 3 dias antes da inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*, em folíolos laterais (efeito local) de cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), Uirapuru e Mouro Graúdo, sobre o desenvolvimento do número de lesões necróticas de antracnose, nas nervuras primária, secundária, terciária e no comprimento total destas nervuras, avaliado aos 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4. .... 56
- Anexo 4.** ANOVA de modelos linear, quadrático e cúbico de regressão de dados de pré-tratamentos com ulvana (10mg/mL), 6 e 3 dias antes da inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*, em folíolos laterais (efeito local) de cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), Uirapuru e Mouro Graúdo, sobre o desenvolvimento do número de lesões necróticas de antracnose, nas nervuras primária, secundária, terciária e no comprimento total destas nervuras, avaliado aos 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4. .... 57
- Anexo 5.** Ajustes lineares para equações de retas de regressão das interações significativamente diferentes entre os cultivares de feijoeiro comum, Uirapuru e Mouro Graúdo, sobre o desenvolvimento do número de lesões necróticas de antracnose nos diferentes tipos de nervuras, dos folíolos laterais (efeito local) ao longo ao longo de 4 avaliações, 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4..... 58
- Anexo 6.** Número de lesões necróticas de antracnose, nas nervuras primária, secundária, terciária e no comprimento total destas nervuras, em folíolos centrais (efeito sistêmico) de cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), Uirapuru (acima) e Mouro Graúdo (abaixo), pré-tratados com ulvana (10mg/mL), 6 e 3 dias antes da inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*, avaliada aos 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4. . 59
- Anexo 7.** ANOVA de dados de pré-tratamentos com ulvana (10mg/mL), 6 e 3 dias antes da inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*, em folíolos centrais (efeito sistêmico) de cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), Uirapuru e Mouro Graúdo, sobre o desenvolvimento do número de lesões necróticas de antracnose, nas nervuras primária, secundária, terciária e no comprimento total destas nervuras, avaliado aos 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4. .... 60
- Anexo 8.** ANOVA de modelos linear, quadrático e cúbico de regressão de dados de pré-tratamentos com ulvana (10mg/mL), 6 e 3 dias antes da inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*, em folíolos centrais (efeito sistêmico) de cultivares de feijoeiro comum

(*Phaseolus vulgaris* L.), Uirapuru e Mouro Graúdo, sobre o desenvolvimento do número de lesões necróticas de antracnose, nas nervuras primária, secundária, terciária e no comprimento total destas nervuras, avaliado aos 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4. ....61

**Anexo 9.** Ajustes lineares para equações de retas de regressão das interações significativamente diferentes entre os cultivares de feijoeiro comum, Uirapuru e Mouro Graúdo, sobre o desenvolvimento do número de lesões necróticas de antracnose nos diferentes tipos de nervuras, dos folíolos centrais (efeito sistêmico) ao longo de 4 avaliações, 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4..... 62

**Anexo 10.** Comprimento (mm) de lesões necróticas de antracnose, nas nervuras primária, secundária, terciária e no comprimento total destas nervuras, em folíolos laterais (efeito local) de cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), Uirapuru (acima) e Mouro Graúdo (abaixo), pré-tratados com ulvana (10mg/mL), 6 e 3 dias antes da inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*, avaliada aos 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4.....63

**Anexo 11.** ANOVA de dados de pré-tratamentos com ulvana (10mg/mL), 6 e 3 dias antes da inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*, em folíolos laterais (efeito local) de cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), Uirapuru e Mouro Graúdo, sobre o desenvolvimento do comprimento de lesões necróticas de antracnose, nas nervuras primária, secundária, terciária e no comprimento total destas nervuras, avaliado aos 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4. ....64

**Anexo 12.** ANOVA de modelos linear, quadrático e cúbico de regressão de dados de pré-tratamentos com ulvana (10mg/mL), 6 e 3 dias antes da inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*, em folíolos laterais (efeito local) de cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), Uirapuru e Mouro Graúdo, sobre o desenvolvimento do comprimento de lesões necróticas de antracnose, nas nervuras primária, secundária, terciária e no comprimento total destas nervuras, avaliado aos 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4.....65

**Anexo 13.** Ajustes lineares para equações de retas de regressão das interações significativamente diferentes entre os cultivares de feijoeiro comum, Uirapuru e Mouro Graúdo, sobre o desenvolvimento do comprimento de lesões necróticas de antracnose nos diferentes tipos de nervuras, dos folíolos laterais (efeito local) ao longo de 4 avaliações, 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4. ....66

**Anexo 14.** Comprimento (mm) de lesões necróticas de antracnose, nas nervuras primária, secundária, terciária e no comprimento total destas nervuras, em folíolos centrais (efeito sistêmico) de cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), Uirapuru (acima) e Mouro Graúdo (abaixo), pré-tratados com ulvana (10mg/mL), 6 e 3 dias antes da inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*, avaliada aos 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4.....67

**Anexo 15.** ANOVA de dados de pré-tratamentos com ulvana (10mg/mL), 6 e 3 dias antes da inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*, em folíolos centrais (efeito sistêmico) de cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), Uirapuru e Mouro Graúdo, sobre o desenvolvimento do comprimento de lesões necróticas de antracnose, nas nervuras

primária, secundária, terciária e no comprimento total destas nervuras, avaliado aos 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4. .... 68

**Anexo 16.** ANOVA de modelos linear, quadrático e cúbico de regressão de dados de pré-tratamentos com ulvana (10mg/mL), 6 e 3 dias antes da inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*, em folíolos centrais (efeitosistêmico) de cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), Uirapuru e Mouro Graúdo, sobre o desenvolvimento do comprimento de lesões necróticas de antracnose, nas nervuras primária, secundária, terciária e no comprimento total destas nervuras, avaliado aos 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4..... 69

**Anexo 17.** Ajustes lineares para equações de retas de regressão das interações significativamente diferentes entre os cultivares de feijoeiro comum, Uirapuru e Mouro Graúdo, sobre o desenvolvimento do comprimento de lesões necróticas de antracnose nos diferentes tipos de nervuras, dos folíolos centrais (efeito sistêmico) ao longo de 4 avaliações, 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4..... 70

**Anexo 18.** Germinação de conídios de *Colletotrichum lindemuthianum*, avaliada, em células de folíolos laterais (efeito local) de três cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), Uirapuru, Mouro Graúdo , previamente tratados com ulvana (10mg/mL), 6 e 3 dias antes da inoculação com, e Valente, ao microscópio óptico (480x), 48 hai, no estágio fenológico V4..... 71

## RESUMO

### **Respostas de defesa e resistência induzida por ulvana à antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) em cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.)**

O efeito da aplicação foliar do polissacarídeo algal, ulvana, na resistência à antracnose e nas respostas de defesa foi estudado sobre as nervuras primária, secundária e terciária em folíolos de cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.). Para tanto, três cultivares de feijoeiro, apresentando diferentes níveis de resistência foram usados, isto é, 'Uirapuru' (suscetível), 'Mouro Graúdo' (com resistência de planta adulta) e 'Valente' (resistente). Estas plantas, no estágio fenológico V3, foram pulverizadas com ulvana (10 mg/mL) ou com água destilada (testemunha) 6 e 3 dias antes da inoculação com a raça 73 de *C. lindemuthianum*. O folíolo central do segundo trifólio foi protegido com um saco plástico durante o tratamento, para avaliar o efeito sistêmico, enquanto que os dois folíolos laterais permaneceram desprotegidos. A área foliolar bem como o comprimento das nervuras foram determinados, e a severidade da doença foi avaliada por escala descritiva e pela mensuração do número e tamanho de lesões necróticas sobre cada nervura. Às 48 horas após a inoculação, discos foliares de 8mm de diâmetro foram coletados de folíolos laterais, clareados com solução de etanol e ácido acético glacial (3:1. v/v), conservados em solução de lactoglicerol, corados com azul de Amann (0,1%) e examinados ao microscópio óptico (480x) para determinar a germinação de conídios, a formação de apressórios e a frequência de células hipersensitivas. A área foliolar e o comprimento das nervuras foram muito semelhantes entre os cvs. Uirapuru e Mouro Graúdo. A severidade da doença aos 8 dai (dias após a inoculação) não diferiu entre os tratamentos. Entretanto, a ulvana reduziu local e sistemicamente a taxa de desenvolvimento tanto do número como do comprimento de lesões de 8 a 14 dai em ambos os cultivares suscetíveis. A nervura primária foi mais suscetível à antracnose do que as outras. A taxa de formação de lesões foi reduzida sistemicamente pela ulvana somente na nervura secundária. Os conídios germinaram igualmente nos cultivares, mas a ulvana reduziu sua germinação em 28 e 44% nos cvs. Uirapuru e Mouro Graúdo, respectivamente. A maior formação de apressórios (42%) foi registrada no 'Valente' que diferiu significativamente daquela sobre os folíolos do 'Mouro Graúdo'. A ulvana não influenciou a formação de apressórios. A frequência de células hipersensitivas foi semelhante entre os cultivares, mas significativamente maior em 'Uirapuru' tratado com ulvana que em plantas testemunhas de 'Mouro Graúdo'. A resistência inata e induzida bem como algumas respostas de defesa dos tecidos de feijoeiro à antracnose e o efeito da ulvana sobre a germinação de conídios são discutidos.

## ABSTRACT

### **Defense responses and resistance induced by ulvan to anthracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) in common bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.)**

The effect of foliar application of the algal polysaccharide ulvan on the resistance to anthracnose and defense responses was studied on primary, secondary and tertiary veins of bean leaflets (*Phaseolus vulgaris* L.). For that, three bean cultivars showing different resistance levels were used, i.e. 'Uirapuru' (susceptible), 'Mouro Graúdo' (with adult plant resistance) and 'Valente' (resistant). Plants at V3-growth stage were sprayed with ulvan (10 mg/mL) or water (control) six and three days before the inoculation with the race 73 of *C. lindemuthianum*. The central leaflet of the 2<sup>th</sup> leaf was covered with a plastic bag at treatment time, to evaluate the systemic effect, whereas two lateral leaflets remained uncovered. The leaflet area as well as vein length were determined and the disease severity assessed by both descriptive scale and measuring the number and the size of necrotic lesions on each leaflet vein. At 48 h after inoculation, 8-mm diameter leaf discs from lateral leaflets were collected, bleached with ethanol: glacial acetic acid (3:1. v/v), stored in lactoglycerol, stained with Amann's blue (0.1%) and examined with a light microscopy (480x) to determine the conidia germination, appressoria formation and frequency of hypersensitive cells. Uirapuru and Mouro Graúdo cvs. presented similar leaflet area and vein length. Disease severity at 8 days after inoculation (dai) did not differ between treatments. However, ulvan locally and systemically reduced the development rate of both lesion number and length from the 8<sup>th</sup> to 14<sup>th</sup> dai in both susceptible cultivars. Primary vein was more susceptible to anthracnose than others. Lesion formation rate was systemically reduced by ulvan only at the secondary vein. Conidia germinated on cultivars equally well, but ulvan reduced their germination by 28 and 44% on 'Uirapuru' and 'Mouro Graúdo', respectively. The highest appressoria formation (42%) was recorded on 'Valente' which significantly differed from that on the 'Mouro Graúdo' leaflets. Ulvan did not influence appressoria formation. The frequency of hypersensitive cells was similar among cultivars, but significantly higher in ulvan-treated 'Uirapuru' than in 'Mouro Graúdo' control plants. The innate and induced resistance as well as some defense responses of bean plant tissues to anthracnose and the effect of ulvan on conidia germination are discussed.

## 1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O Brasil é o maior produtor mundial de feijoeiros da espécie *Phaseolus vulgaris*, com uma produção de 3 bilhões de toneladas na safra 2004 (IBGE, 2005) além de ser o maior consumidor mundial com 18,4 kg /hab/ ano, porém esta cultura ainda apresenta baixa produtividade média, cerca de 745 kg/ha (IBGE, 2005), decorrente de problemas de déficit hídrico e ocorrência de microrganismos fitopatogênicos. Dentre estes, destaca-se *Colletotrichum lindemuthianum*, agente causal da antracnose que é reconhecida como a mais importante doença fúngica que ataca a parte aérea do feijoeiro (Rava *et al.*, 1993). Seu controle é especialmente difícil devido ao fato do patógeno ser disseminado eficientemente por sementes (Tu, 1992) e a existência de inúmeras raças do fungo (Sartorato, 2006). Deste modo, as principais medidas de controle atualmente são o uso de cultivares resistentes e o emprego de fungicidas.

Os programas de melhoramento têm dado preferência à incorporação de genes de resistência vertical, porém a grande variabilidade dos fungos é capaz de vencer esta resistência de tempos em tempos (Robinson, 1976), o que vem acontecendo no caso da antracnose do feijoeiro. Por outro lado, o uso de agrotóxicos para a proteção de plantas contra fitopatógenos, apesar de trazer resultados “positivos” em curto prazo, traz desvantagens por exemplo, de onerar custos de produção, contaminação do solo e da água, problemas de saúde para o ser humano, seleção de microrganismos resistentes, desequilíbrio ambiental (Talamini & Stadnik, 2004)

Dentro deste contexto, para minimizar ou até mesmo eliminar as desvantagens trazidas pelos agrotóxicos, ou como opção para driblar a grande variabilidade dos fungos capazes de vencer a resistência vertical, a indução de resistência tem se mostrado uma alternativa promissora e complementar ao controle químico e genético convencional. Entre os indutores, os extratos etanólicos e polissacarídeos de macroalgas marinhas têm apresentados resultados promissores quanto à capacidade de resistência à antracnose do feijoeiro (Paulert, 2005; Abreu, 2005).

Considerando a grande produção de biomassa de *Ulva* no litoral sul brasileiro e seus resultados promissores na indução da resistência à antracnose na cultura do feijoeiro, desenvolveu-se esta pesquisa para avaliar a aplicação da ulvana na indução de resistência ao fungo fitopatogênico *C. lindemuthianum* em cultivares de feijoeiro comum.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Avaliar a indução de resistência em três cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) ao *Colletotrichum lindemuthianum* pelo polissacarídeo de alga (*Ulva fasciata*).

### 2.2 Objetivos específicos

- Verificar medidas foliares nos cultivares de feijoeiro;
- Comparar a severidade da antracnose em três cultivares de feijoeiro nos estádios fenológicos V3, com e sem aplicação de ulvana;
- Verificar a ocorrência de efeito sistêmico de ulvana na indução de resistência ao *C. lindemuthianum*, em três cultivares de feijoeiro, no estágio fenológico V3;
- Determinar, microscopicamente, em que estágio(s) ocorre o desenvolvimento das estruturas de infecção do *C. lindemuthianum* e qual o momento de resistência em diferentes cultivares de feijoeiro no estágio fenológico V3, antes e depois da aplicação do tratamento com ulvana.

## 3. HIPÓTESE

A aplicação foliar de ulvana induz respostas de defesa de modo diferenciado em cultivares de feijoeiro ao *Colletotrichum lindemuthianum*.



## 4. REVISÃO DE LITERATURA

### 4.1 Cultura do feijoeiro

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é cultivado em todo o mundo, em quase todas as regiões, nos mais diferentes climas. É um importante constituinte da dieta do brasileiro, por ser uma excelente fonte protéica vegetal, contendo cerca de 20 a 25% de proteína, mas é deficiente em aminoácidos sulfurados (metionina e cisteína). O feijão é um dos produtos agrícolas de maior importância econômico-social, por ser cultivado em grandes extensões de áreas e devido ao emprego de mão-de-obra durante o ciclo da cultura (Vieira *et al.*, 1999). O feijoeiro comum é a espécie mais cultivada no gênero *Phaseolus*, que inclui *P. coccineus*, *P. acutifolius*, *P. lunatus*, contribuindo com cerca de 95% da produção mundial entre os feijões, cultivado em mais de 100 países, destacando-se Índia, Brasil, Estados Unidos e México, responsáveis por 63% do total produzido. O Brasil é o maior consumidor de feijão com 18,4 kg hab/ano (Embrapa, 2006).

Embora o país seja consumidor em potencial, a produção brasileira não é suficiente para suprir o consumo interno, apesar de ser o segundo maior produtor mundial de feijão, já que apresenta um rendimento médio entre os mais baixos do mundo, com cerca de 745 kg/ha. Entre os fatores que afetam a produtividade da cultura do feijoeiro destacam-se as perdas ocasionadas por doenças, que em alguns casos podem chegar a 100%, principalmente quando o manejo não é adequado e as medidas de controle não são adotadas (Gilbertson & Maxwell, 1992; Saettler, 1991). A Região Sul do Brasil ocupa lugar de destaque no cenário nacional, respondendo por 37% da produção, seguida da Região Sudeste com 31%, Região Nordeste com 16%, Região Centro-Oeste com 13%, e da Região Norte com 3% (Embrapa, 2006).

O cultivar IPR Uirapuru, vem sendo cultivado na região do Alto Vale do Itajaí, no estado de Santa Catarina, por apresentar um alto rendimento. Entretanto, em trabalhos realizados na Escola Agrotécnica Federal de Rio do Sul, esse cultivar apresentou suscetibilidade a algumas raças de *C. lindemuthianum*, tais como à raça 73 (Loffaguen, 2004). O cultivar BRS Valente, que já vem sendo utilizado nessa mesma região, também é uma boa alternativa de cultivo (Embrapa, 2004), pois apresentou resistência ao mosaico comum, reação intermediária à ferrugem e mancha angular e sob inoculação artificial, apresentou resistência a 19 raças do fungo causador da antracnose (Embrapa Trigo, 2006). O cultivar

Mouro Graúdo apresentou reação suscetível nos estádios V1/V2, intermediária em V4/R5 e resistente em R5/R6 para as raças 23, 31, 65 e 89 de *C. lindemuthianum*, caracterizando aumento gradativo da resistência com a idade da planta (Medeiros, 2004).

## 4.2 Antracnose do feijoeiro

O feijoeiro comum é uma planta bastante vulnerável à ação dos agentes ambientais, seja de natureza abiótica (clima) ou biótica (organismos vivos), caracterizada por acentuada instabilidade produtiva (Dourado Neto & Fancelli, 2000). Em função da expansão das áreas cultivadas no Brasil e do cultivo sucessivo, principalmente em áreas irrigadas, há uma maior contribuição para o aumento e disseminação dos patógenos. Além disso é suscetível a inúmeras doenças que diminuem a produtividade da cultura e podem depreciar a qualidade do produto (Sartorato, 2004).

A antracnose do feijoeiro, causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Scrib., é uma das doenças mais graves do feijoeiro, afetando cultivares suscetíveis em todo o mundo. Esta doença estabelece-se, preferencialmente, em regiões de temperatura moderada a fria, entre 13°C e 26°C, com o ótimo a 21°C, e com alta umidade ambiental, como nas zonas temperadas e subtropicais, onde a umidade relativa do ar acima de 91% é freqüente (Bianchini *et al.*, 1997; Paula-Jr. & Zambolim, 1998). O patógeno sobrevive de uma safra a outra como micélio dormente no interior das sementes e em restos culturais. Os fatores que contribuem para a disseminação do patógeno à longa distância são o uso de sementes contaminadas e chuvas moderadas e freqüentes, acompanhadas de ventos. Na disseminação à curta distância, destaca-se o salpico de chuva sobre os resíduos de colheita, insetos, animais, homem e implementos agrícolas (Pastor-Corrales, 1985; Schwartz, 1991; Sartorato *et al.*, 1996). Nestas condições ambientais e sobre cultivares suscetíveis, e especialmente se as sementes estiverem infectadas pelo patógeno, podem ocorrer reduções de até 100% no rendimento da cultura (Chaves, 1980; Peloso, 1992).

*C. lindemuthianum* é um fungo mitospórico, produz micélio septado e ramificado, de coloração hialina a quase negra, à medida que envelhece. Os conídios são hialinos, unicelulares, podendo ser oblongos, cilíndricos, com pontas arredondadas; germinam em 6 a 9 horas sob condições favoráveis, formam tubo germinativo, apressório e penetram mecanicamente pela cutícula e epiderme do hospedeiro. As dimensões dos conídios variam

entre 4,4µm a 5,3µm x 13µm a 22µm, sendo formados no interior de acérvulos e sobre conidióforos hialinos, eretos e ramificados, que medem de 40µm a 60µm de comprimento. Os conidióforos/conídios apresentam-se envolvidos por uma massa gelatinosa de cor salmão, ocre ou rosa, agregados em 30 a 50 conidióforos por acérvulo (Bianchini *et al.*, 1997; Medeiros, 2004).

Os sintomas da antracnose podem ser observados em toda parte aérea da planta. As lesões necróticas de coloração marrom-escura nas nervuras da face inferior da folha são os sintomas típicos desta doença. Lesões produzidas no caule e nos pecíolos são alongadas, escuras e às vezes deprimidas. Nas vagens, são geralmente circulares e deprimidas, de coloração marrom, com os bordos escuros e salientes, circundados por um anel pardo-avermelhado, podendo ainda apresentar o centro de coloração mais clara ou rosada, devido à esporulação do fungo (Bianchini *et al.*, 1997)

*C. lindemuthianum* possui ampla variabilidade em relação à capacidade de causar doença em vários cultivares. Tal variabilidade é identificada através de raças fisiológicas (Sartorato, 2002). No período de 1994 e 2002, identificou-se no Brasil, um total de 50 raças. As raças 65, 73, 81 e 87 foram as mais frequentes e estão largamente distribuídas em praticamente todos os estados amostrados do Brasil. No estado do Paraná, foi encontrada a maior variabilidade (29 raças), seguido por Goiás, Santa Catarina, Rio Grande do Sul e Minas Gerais, com 17, 16, 14 e 9 raças, respectivamente (Alzate-Marin & Sartorato, 2004; Sartorato, 2006).

#### **4.3 Processo de infecção de *Colletotrichum lindemuthianum***

Logo após a deposição na superfície das folhas, os conídios de *C. lindemuthianum*, em contacto com um filme de água na superfície da folha, iniciam o processo de germinação. A maioria dos esporos germina dentro de um período de 9h. O tubo germinativo sofre uma complexa diferenciação na sua extremidade livre, formando um apressório, próximo ao conídio, normalmente na junção entre células epidérmicas (Warthon & Julian, 1996). A diferenciação de um apressório é essencial para a penetração no hospedeiro e a sua maturação envolve: formação de um poro de penetração na base da célula; deposição de novas camadas na parede celular e secreção de matriz extracelular. Para fixar o apressório firmemente na superfície da parede celular do hospedeiro, é depositada melanina em uma camada de parede

celular do patógeno, fechando a membrana plasmática (O'Connell *et al.*, 1995). Após a fixação do apressório na superfície da folha, há formação da hifa infectiva, a qual emerge a partir do poro do apressório e penetra diretamente a cutícula e a parede celular do hospedeiro (Wharton *et al.*, 2001). A penetração por meio de tubo germinativo não diferenciado, ou seja, sem formação de apressório, ou através dos estômatos não foi observada. Dentro da parede celular a hifa infectiva aumenta de volume e desenvolve uma vesícula de infecção globosa (Warthon & Julian, 1996; Wharton *et al.*, 2001).

A penetração na cutícula da planta e parede celular, provavelmente, envolve as seguintes combinações: força mecânica; maior turgor (maior pressão); secreção de enzimas degradadoras da cutícula e parede celular; e uma combinação dos processos anteriores (Bailey *et al.*, 1992). Em *M. grisea*, o maior turgor no apressório é conseguido pela concentração de glicerol, que é retido dentro da célula, pois a melanina é impermeável a este álcool. Um mecanismo similar ocorre em apressório de *Colletotrichum lindemuthianum* (Bailey *et al.*, 1992).

Após a penetração nos tecidos da folha, *C. lindemuthianum*, apresenta dois estádios de infecção: uma fase inicial biotrófica e uma fase secundária necrotrófica. Na fase biotrófica, a qual tem uma duração de, aproximadamente, 24h, as membranas das células infectadas invaginam-se em torno das vesículas de infecção, não havendo qualquer alteração estrutural no citoplasma. Após a infecção de várias células do hospedeiro, as hifas crescem intracelularmente, degenerando as células infectadas e dando origem à fase necrotrófica de infecção, quando hifas secundárias, de diâmetro variável são formadas (Wharton & Julian, 1996; Wharton *et al.*, 2001; Mendgen & Hahn, 2002). Nesta fase, são observados os sintomas típicos da doença. Durante a colonização dos tecidos do hospedeiro, a cutícula é rompida mecanicamente, permitindo a exteriorização dos conidióforos, conídios, podendo ou não aparecer setas, estruturas duras e pontiagudas, septadas, de cor marrom, medindo entre 30µm a 100µm, que podem ou não se sobressair da massa gelatinosa que cobre os conídios, caracterizando a esporulação do patógeno. Esse tipo de infecção caracteriza o fungo *C. lindemuthianum* como parasita hemibiotrófico (Wharton *et al.*, 2001; Medeiros, 2004).

#### 4.4 Controle da antracnose do feijoeiro

A antracnose do feijoeiro é uma doença de difícil controle devido à eficiente transmissão do patógeno pela semente; à falta de método de controle químico efetivo; à capacidade de sobrevivência durante vários meses em restos culturais infectados no solo (Sutton, 1992).

Medidas integradas e complementares poderiam apresentar resultados promissores (Rava *et al.*, 1993): quarentena; estabelecimento de tolerância do nível de sementes infectadas; produção de sementes em áreas livres de doença; tratamento químico de sementes; remoção dos restos culturais; rotação de culturas utilizando espécies não hospedeiras como, por exemplo, o milho; procedimentos sanitários; aplicação de fungicidas, como por exemplo, Captan, Carbendazim, Quintozene (tratamento de sementes) ou Azoxystrobin, Chlorothalonil, Mancozeb (pulverizações foliares) (Embrapa, 2007); uso de cultivares resistentes.

Cultivares resistentes têm sido o método mais apropriado para controlar a antracnose, particularmente, em países onde métodos alternativos são difíceis de serem implementados. A grande variabilidade presente em *C. lindemuthianum*, porém, tem resultado em contínua quebra de resistência em cultivares comerciais. O fato de haver muitas espécies de leguminosas hospedeiras, possibilita o patógeno sobreviver em hospedeiros alternativos conferindo certa dificuldade em relação às intervenções para seu controle (Medeiros, 2004). O fungo *C. lindemuthianum* possui ampla variabilidade em relação à capacidade de causar doença em vários cultivares. Tal variabilidade é identificada pela presença de diferentes raças fisiológicas (Sartorato, 2002). Diante da utilização de diferentes conjuntos de cultivares diferenciadores para a classificação das raças decidiu-se, numa reunião realizada no Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), pela adoção universal de um conjunto de doze cultivares diferenciadores de feijão e uma nova metodologia para a nomenclatura de raças do patógeno da antracnose foi proposta. Essa nova nomenclatura é baseada num sistema binário, no qual os cultivares diferenciadores ( $d_i$ ) são identificados ordenadamente de 1 a 12. Sistema de nomenclatura para os genes que conferem resistência à antracnose foi proposto, entre outros objetivos, para auxiliar a caracterização de raças, e o símbolo *Co*, de *Colletotrichum*, seguido de números que ordenam a sequência de identificação dos genes, foi sugerido (Medeiros 2004).

Atualmente, a série diferenciadora utilizada é composta pelos cultivares Michelite, Michigan Dark Red Kidney, Perry Marrow, Cornell 49-242, Widusa, Kaboon, México 222, PI

207-262, TO, TU, AB 136 e G 2333 (Pastor-Corrales, 1991). Cada cultivar possui um ou mais genes de resistência, destacando-se Co-1, presente em Michigan Dark Red Kidney; Co-2, presente em Cornell 49-242; Co-3, presente em México 222; Co-4, presente em TO; Co-5, presente em TU; Co-6, presente em AB 136 e Co-42, Co-5, Co-7, presentes em G2333. Os demais cultivares da série ainda não tiveram genes de resistência identificados (Medeiros, 2004). A designação de uma determinada raça se dá pela soma dos valores numéricos ( $2^{di-1}$ ) de cada cultivar diferenciador que é suscetível a essa raça. Por exemplo, a raça 5 ( $1 + 4$ ) vence o cv. Michelite ( $2^0$ ) e o cv. Perry Marrow ( $2^2$ ). A resistência à antracnose é condicionada por nove genes independentes, Co-1 ao Co-10 e os genes Co-3 e Co-9 são formas alélicas de um mesmo gene (Silva, 2005).

#### 4.5 Indução de resistência

As plantas são continuamente expostas a um grande número de patógenos e, como resultado, apresentam um complexo mecanismo de defesa para reconhecer e se proteger, através da montagem de barreiras que restringem a invasão do agente patogênico. A resistência natural de plantas a microrganismos patogênicos baseia-se numa grande variedade de barreiras químicas e físicas que promovem os mecanismos de defesa pré-existent, denominados de constitutivos. Além destes, as plantas possuem mecanismos de defesas eficientes, que permanecem inativos ou latentes, que são acionados ou ativados após a célula vegetal entrar em contato com agentes de indução. Nesse caso, a resistência é dita induzida (Colson & Deverl, 1996; Agrios, 1997). Segundo Stadnik & Maraschin (2004), a resistência induzida é caracterizada pela: 1) ausência de efeitos tóxicos do agente indutor sobre o patógeno; 2) possibilidade de se suprimir a resistência induzida por agentes que inibem a expressão de genes do hospedeiro; 3) necessidade de um intervalo de tempo entre exposição da planta ao indutor e a expressão da resistência; 4) falta de relação entre a magnitude da resistência expressa e quantidades do indutor aplicado; 5) inespecificidade da proteção; 6) dependência do ambiente e do genótipo da planta.

O princípio da indução de resistência pode ser aplicado na proteção de plantas contra diferentes doenças, sejam elas causadas por bactérias, fungos ou vírus. A resistência do hospedeiro a fitopatógenos pode ser entendida como a capacidade da planta em evitar ou atrasar a penetração e/ou o subsequente desenvolvimento do patógeno. Plantas podem reagir

ao ataque fúngico: 1) pela formação de papilas; 2) reações hipersensitivas; 3) síntese de compostos antimicrobianos; 4) enzimas degradadoras da parede celular do patógeno; e/ou 5) por alterações metabólicas em seus tecidos (Stadnik & Maraschin, 2004).

A capacidade de plantas se defenderem contra patógenos depende de vários mecanismos que detectam invasores através da percepção de sinais moleculares, também chamados elicitores. O gatilho de percepção do elicitor usualmente começa com um influxo de cálcio e uma explosão oxidativa, seguida pela síntese de moléculas de sinal tal como ácido salicílico e etileno (Cluzet *et al.*, 2004). O reconhecimento planta-microrganismo ocorre devido à interação de uma molécula elicitora do patógeno ou da própria planta, que é liberada por ação do patógeno, e de um receptor protéico presente na membrana celular da planta (Hahn, 1996; Metraux, 2001). As moléculas elicitoras são de natureza variável sendo mais comum a ocorrência de carboidratos, lipídios, proteínas e glicoproteínas. A origem também pode ser variável, por exemplo, os lipopolissacarídeos extracelulares de bactérias, glicoproteínas da parede celular de fungos patogênicos e leveduras, e carboidratos da parede celular de fungos e algas, são alguns dos elicitores capazes de ativar mecanismos de defesa de plantas (Wulff & Pascholati, 1999; Klarzynski *et al.*, 2000; Cluzet *et al.*, 2004). Plantas tratadas com moléculas elicitoras podem levar não apenas a uma resposta de resistência, mas a uma expressão sincronizada de diversos mecanismos de defesa, culminando com a indução de resistência.

A indução de resistência em plantas a patógenos é conhecida há muitos anos. Em 1933, Chester afirmou que as plantas inoculadas com microrganismos atenuados ficavam protegidas contra subseqüentes infecções pelo mesmo microrganismo ou contra outros semelhantes. Entretanto, só recentemente a potencialidade de seu emprego no controle de enfermidades tem recebido enfoque e a dedicação de pesquisadores (Sticher *et al.*, 1997). A resistência sistêmica adquirida – SAR (Systemic Acquired Resistance) – designa o fenômeno através do qual as plantas, após exposição a um agente indutor, têm seus mecanismos de defesa ativados não apenas no sítio de indução como também em outros locais dele distantes, de forma mais ou menos generalizada (Sticher *et al.*, 1997). A SAR envolve acúmulo de proteínas relacionadas à patogênese (PRPs), como mecanismos induzidos de defesas da planta, e a sua indução pode resultar em alterações visuais (necroses), e geralmente é induzida por patógenos ou ativadores químicos (Van Loon *et al.*, 1998).

A SAR caracteriza-se por apresentar um mecanismo de controle não específico, ou seja, a capacidade de controlar diversas doenças de origens diferentes (Sticher *et al.*, 1997; Van Loon *et al.*, 1998). A ativação de genes de defesa que codificam enzimas envolvidas nos

mecanismos de defesa como a peroxidase,  $\beta$ -1,3- glucanase, e envolvidas na síntese de fitoalexinas, levam ao aumento da expressão desses genes que podem resultar na resistência sistêmica induzida (ISR) (Nandakumar *et al.*, 2001). Recentes estudos estabeleceram novas alternativas para incrementos da resistência das plantas a diversas doenças, principalmente por meio da indução de resistência. Por exemplo, a pré-inoculação com fungo patogênico avirulento pode induzir resistência nas plantas hospedeiras (Lyon *et al.*, 1995), bem como a utilização de raios UV (Ghaouth *et al.*, 2003).

A resistência induzida pode influenciar, com exceção da germinação de esporos, as demais fases do desenvolvimento de fungos. Em plantas com resistência adquirida, o fungo apresenta uma menor eficiência de penetração das células epidérmicas e/ou um crescimento prejudicado de suas hifas. Como consequência, verifica-se uma redução do número, tamanho e esporulação das lesões, que resulta finalmente num menor progresso da doença no campo. Embora já sendo usados na prática, indutores de resistência a fitopatógenos encontram-se ainda numa fase inicial de desenvolvimento e precisam ser melhor estudados e novos indutores, mais eficientes que os atualmente disponíveis, são extremamente necessários (Stadnik & Maraschin, 2004).

#### **4.6 Uso de algas marinhas**

As plantas e as algas marinhas são uma importante fonte de substâncias biologicamente ativas, ou seja, substâncias que apresentam alguma atividade sobre o metabolismo de um organismo vivo (diverso daquele no qual foi produzido). Do ponto de vista fitossanitário, os produtos naturais podem apresentar três atividades principais: (1) antibiose, isto é, atividade direta contra os fitopatógenos pois inibem o crescimento micelial, a germinação de esporos ou a multiplicação de microrganismos; (2) indução de resistência, pois contém moléculas bioativas capazes de ativar os mecanismos de defesa da planta; (3) bioestimulação de crescimento da planta (Talamini & Stadnik, 2004).

As substâncias bioativas sintetizadas pelos vegetais e algas marinhas geralmente são provenientes do metabolismo secundário. Dentre essas substâncias pode-se citar como exemplos os fenóis, os polipeptídeos, os terpenos entre outras (Poser & Mentz, 2000). Os fenóis são compostos derivados de um anel fenólico, sendo que quanto maior for seu grau de hidroxilação, maior sua toxicidade para microorganismos. Os compostos oxidados inibem a



atividade enzimática através de uma reação de grupos sulfidrilas ou por interações não específicas com proteínas (Cowan, 1999). Os peptídeos com atividade antimicrobiana estão presentes em grande parte dos vegetais e podem ser classificados em famílias como, por exemplo, as tioninas, e as defensinas de plantas. Seu modo de ação está relacionado à desestruturação da membrana celular do microorganismo-alvo e também podem atuar como indutores de resistência. Os terpenos são metabólitos secundários derivados do acetato, cuja estrutura básica é o isopreno, e quando possuem elementos adicionais, como o oxigênio, são denominados terpenóides. São ativos contra bactérias, fungos e protozoários, agindo possivelmente na desorganização da estrutura da membrana celular desses microorganismos (Cowan, 1999).

Apesar da alta diversidade de espécies de algas marinhas, estas ainda são subutilizadas, principalmente na área agrícola. O fato é que pouco se conhece a respeito das suas potencialidades, mas atualmente é um campo que tem despertado interesse e uma série de pesquisas nessa área foram iniciadas. Um dos motivos desse crescente interesse se deve ao fato das algas marinhas crescerem geralmente rápido e produzirem grande volume de biomassa, além de serem grande fonte de substâncias com atividade biológica (Stadnik, 2003).

Em estudos preliminares de bioprospecção, realizados pelo Laboratório de Fitopatologia da UFSC, o extrato da macroalga verde *Ulva fasciata* reduziu em 80% o número de colônias de oídio (*Erysiphe polygoni*) do feijoeiro. Porém, o extrato não afetou o crescimento *in vitro* das bactérias fitopatogênicas *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* e *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Leonetti *et al.*, 2003). Zeferino & Stadnik (2004) também testaram o extrato etanólico da espécie *U. fasciata* para o controle do oídio em dois cultivares do feijoeiro (Carioca e FT-Bonito) e verificaram redução da severidade do oídio. Porém, o extrato da alga não afetou o oídio de modo sistêmico quando as inoculações foram feitas 9 dias após a pulverização de extrato. O extrato etanólico de *Ulva fasciata* também reduziu o índice de velocidade de crescimento micelial e a germinação de conídios de *C. lindemuthianum*, *in vitro* (Talamini *et al.*, 2004).

O efeito da alga sobre a antracnose do feijoeiro foi avaliada, quinzenalmente, em um experimento no campo com o cultivar Uirapuru, altamente suscetível à doença, em parcelas que receberam pulverizações, a cada 30 dias, com extratos de *Ulva fasciata*, *Aloe Vera* (babosa), fungicida e água (testemunha). As parcelas que receberam pulverizações com os extratos de *Ulva fasciata* e *A. Vera* apresentaram reduções de 55 e 30% na severidade da antracnose, respectivamente, em relação à testemunha. O extrato de *U. fasciata* superou o

efeito da aplicação do fungicida, que reduziu em 50% a severidade da doença (Loffaguem *et al.*, 2004). Acredita-se que, nesse caso, o extrato da alga tenha atuado pela indução de resistência (Talamini & Stadnik, 2004).

## 5. MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 Condições de cultivo de feijoeiro

Os experimentos foram conduzidos em casa-de-vegetação e no Laboratório de Fitopatologia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), no período de fevereiro a outubro de 2006.

Foram utilizados dois cultivares comerciais de feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris* L.), IPR Uirapuru e BRS Valente, ambos do grupo preto, e um cultivar local, Mouro Graúdo, do grupo de cores, rajado. Os três cultivares apresentam hábitos de crescimento indeterminados. Foram escolhidos estes materiais por apresentarem diferentes graus e/ou tipos de resistência à antracnose: o ‘Uirapuru’ é suscetível (Loffaguen, 2004; Loffaguen *et al.*, 2005; IAPAR, 2007), o ‘Valente’ é resistente (Medeiros, 2004; Loffaguen *et al.*, 2005; Embrapa, 2007) e o ‘Mouro Graúdo’ apresenta resistência de planta adulta (Medeiros, 2004). As sementes dos cvs. Uirapuru e Valente foram obtidas da Cooperativa Copercampos (Campos Novos - SC) e Sementes Campo Verde Ltda (Roncador – PR), respectivamente. As sementes do cv. Mouro Graúdo foram cedidas gentilmente pela Escola Agrotécnica Federal de Rio do Sul – SC.

Foram semeadas de forma equidistante, oito sementes por vaso plástico (capacidade de 1,5L), contendo substrato composto por uma mistura homogênea (v/v) de solo horizonte B (75%) e composto orgânico (25%). Os vasos foram mantidos sobre bancadas em casa-de-vegetação, irrigados, de acordo com a necessidade hídrica, e casualizados periodicamente durante o experimento.

Aos 5 dias após a semeadura (das), no estágio fenológico V1 (Tabela 1), o substrato foi adubado com 50mL da solução do fertilizante fosfato de monoamônio (N, P, K; 12, 87, 0; Kemira chemical, U.K.) incorporando ao solo 0,4g de N/Kg de solo e 2,8g de P/Kg de solo. Logo após, as plântulas foram pulverizadas com 0,4mL/planta da solução de enxofre 80% PM (0,5g/L, Ambiens, Salvador), para a prevenção contra o oídio (*Erysiphe polygoni*). Aos 6 das, as plântulas foram pulverizadas com 0,4mL/planta da solução de inseticida, Malathion (3mL/L, Dipil, SC), para a prevenção contra insetos.

As plântulas foram pulverizadas com 1mL/planta com as soluções de enxofre e inseticida, aos 8 e 9 das, respectivamente, no estágio fenológico V2, conforme descrito anteriormente. Neste estágio realizou-se o desbaste deixando-se três plântulas por vaso.

Posteriormente, duas plantas/vaso foram usadas para determinar as medidas foliares e avaliar a severidade da antracnose. Uma planta/vaso foi utilizada para a análise microscópica.

**Tabela 1.** Caracterização e evolução dos estádios fenológicos vegetativos para a cultura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), cultivado em condições de casa-de-vegetação nos meses de setembro a outubro, no Centro de Ciências Agrárias (CCA), UFSC \*.

Estádio	Dias	Características
V0	2	Germinação iniciada em 50% das sementes.
V1	4	Cotilédones de 50% das plantas completamente desenvolvidos.
V2	8	Folhas primárias de 50% das plantas completamente desenvolvidas.
V3	12	Primeiro trifólio de 50% das plantas completamente desenvolvidos.
V4	20	Terceiro trifólio de 50% das plantas completamente desenvolvidos.

\* Adaptado de Fancelli & Dourado Neto (1997)

## 5.2 Obtenção de ulvana

A macroalga marinha foi coletada manualmente, em horários de maré baixa, nos costões rochosos da Praia da Armação no litoral de Florianópolis, SC, a 27° 44' 53,7" S e 48° 29' 55,6" O, em janeiro de 2006. A coleta desta alga verde foi registrada no Laboratório de Fitopatologia do CCA com o número 66. Amostras de algas frescas foram enviadas ao Laboratório de Biologia Celular Vegetal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina, sob responsabilidade da Professora Dra. Zenilda Laurita Bouzon, para a identificação do material coletado. Com base em sua morfologia, as algas foram identificadas, segundo Joly (1965), como *Ulva fasciata*.

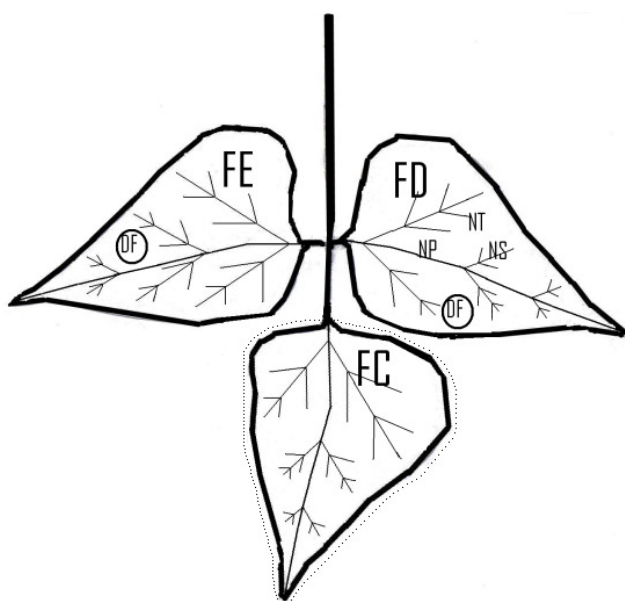
O material coletado foi submetido a uma limpeza manual, para a eliminação dos contaminantes: areia, sal, organismos epífitos, fauna acompanhante e separação de outras espécies de algas. Após, o material selecionado foi lavado abundantemente com água corrente de torneira, a alga foi pesada e imediatamente colocada em estufa com aeração a 40 – 45°C, por 24 a 48h. A macroalga seca foi triturada obtendo-se um pó fino, o qual foi pesado e armazenado a 6 ± 2°C até o momento da extração do polissacarídeo.

A ulvana foi obtida autoclavando-se 30g de pó seco da alga em 300mL de água destilada, durante 2h a 110°C. O líquido foi filtrado com pano de algodão e em seguida foram adicionados 3 volumes de etanol 98GL a - 20°C, por 48h, para haver a precipitação do

polissacarídeo. O sobrenadante de etanol foi decantado e o precipitado, ulvana, foi coletado com espátula de plástico, colocado em placa de Petri e levado à estufa a  $40 \pm 4^\circ\text{C}$ , por 48h, para a secagem. O polissacarídeo foi conservado em geladeira a  $5^\circ\text{C}$ , até o uso.

### 5.3 Aplicação de ulvana

As plantas foram pulverizadas com ulvana (10mg/mL) quando apresentavam o segundo trifólio completamente desenvolvido. Sempre antes do tratamento, protegeu-se o folíolo central do segundo trifólio com um saco plástico transparente (Figura 1), o qual foi retirado após o secamento das folhas. As plantas foram tratadas duas vezes, isto é, aos 6 e 3 dias antes da inoculação. Plantas pulverizadas com água destilada serviram de testemunhas. O objetivo deste tratamento foi avaliar o efeito local, através dos folíolos laterais e o efeito sistêmico, através do folíolo central, no controle da antracnose de feijoeiro comum.



**Figura 1.** Diagrama ilustrativo de uma folha trifoliolada de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) onde foram avaliados o efeito local (FD: folíolo direito e FE: folíolo esquerdo) e o efeito sistêmico (FC: folíolo central, protegido com saco plástico) da ulvana no controle da antracnose. O número e comprimento de lesões necróticas foram avaliados nas nervuras primária (NP), secundária (NS) e terciária (NT) da face abaxial de cada folíolo. Discos foliares (DF) de 8 mm de diâmetro foram coletados 48h após dos folíolos laterais para a análise microscópica do desenvolvimento das estruturas de infecção do patógeno *Colletotrichum lindemuthianum* e do número de células com reação de hipersensibilidade nos três cultivares estudados: Uirapuru, Mouro Graúdo e Valente. Linha pontilhada ao redor do folíolo central representa um saco plástico.

As soluções foram pulverizadas com o auxílio de pistola em motocompressor de ar (Marca Schulz, 60Hz, 220v, 20mL/min, 25lbf/pol2, ¼cv) até o ponto de escorrimento (aproximadamente 4 mL/planta). O cv. Valente não recebeu o tratamento com ulvana por apresentar resistência à antracnose.

#### 5.4 Origem, manutenção e produção do inóculo

Utilizou-se o isolado monospórico (Labfitop 001-03) originado da região do Alto-Vale-do-Itajaí e previamente caracterizado por Loffaguen *et al.* (2005). O isolado foi conservado, a curto prazo, em meio de cultura BDA (batata, dextrose, ágar, 4, 20, 15g/L; Scharlau, Espanha) a  $6\pm 2^{\circ}\text{C}$ , e a longo prazo, pelo método de Castellani (Dhingra & Sinclair, 1995) em temperatura ambiente.

O inóculo da raça 73 de *C. lindemuthianum* foi produzido segundo metodologia descrita por Talamini *et al.* (2004): vagens verdes de feijoeiro, parcialmente imersas em 2 mL de meio ágar-água (12g/L), no interior de tubos de ensaio, foram esterilizadas por duas vezes em autoclave, a  $120^{\circ}\text{C}$  durante 1h, com intervalo de 24h entre as autoclavagens. Em condições assépticas na câmara de fluxo, com o auxílio de um vazador, foram repicados da cultura monospórica discos com 8mm de diâmetro e inoculados nas vagens esterilizadas. Estas vagens, contendo os discos, foram incubadas em câmara BOD a  $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$  com fotoperíodo de 12 h.

Após 15 dias de incubação, com a formação visível de acérvulos (presença de massa rósea sobre a superfície da vagem), foram adicionados 5mL de água destilada esterilizada no interior dos tubos e com o auxílio de uma alça de platina as vagens foram levemente raspadas para haver o desprendimento dos conídios. A suspensão foi filtrada através de uma camada de gaze e homogeneizada em agitador. A concentração de conídios foi quantificada com o auxílio do hemacitômetro de Neubauer, conforme metodologia descrita por Tanaka (1987), e ajustada com água destilada até a obtenção da concentração de  $1,2 \times 10^6$  conídios/mL, utilizando-se a fórmula  $C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$ , onde,  $C_1$  corresponde à concentração inicial,  $C_2$  à concentração final,  $V_1$  ao volume inicial e  $V_2$  ao volume final.

### **5.5 Inoculação das plantas com *Colletotrichum lindemuthianum***

Plantas foram inoculadas no estágio fenológico V3, isto é, quando apresentavam o segundo trifólio completamente desenvolvido. As plantas foram aspergidas com uma suspensão conidial, na concentração de  $1,2 \times 10^6$  conídios/mL e num volume aproximado de 4mL/planta. As plantas testemunhas foram pulverizadas com água destilada. As pulverizações foram realizadas com auxílio de pistola em motocompressor de ar, conforme descrito no item 5.3.

Após a inoculação, as plantas permaneceram em câmara úmida a  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  e 98% de umidade relativa por 48h, mantendo-se assim, as condições necessárias para a germinação dos conídios do fungo e o desenvolvimento do processo infeccioso. Findo este período, as plantas foram transferidas para bancadas em casa-de-vegetação, onde permaneceram até a avaliação.

### **5.6 Medidas foliulares**

O comprimento das nervuras (cm) e área foliolar ( $\text{cm}^2$ ) foram determinadas no estágio fenológico V4, isto é, quando as plantas apresentavam o terceiro trifólio completamente desenvolvido. Estas medidas foram tomadas nos folíolos do segundo trifólio e usadas para expressar os valores do número e comprimento de lesões por centímetro de nervura, e calcular o número de células com reação de hipersensibilidade na superfície de um folíolo. As medidas do cv. Valente não foram determinadas pois este cultivar apresenta resistência à antracnose.

O comprimento das nervuras primária, secundária e terciária foi obtido através de método não-destrutivo com o auxílio de uma régua milimetrada, aos 11 dias após a inoculação (dai). Para a estimativa da área foliolar, aos 15 dai, seguiu-se a metodologia descrita por Queiroga *et al.* (2003), utilizando-se, porém, o comprimento ao longo da nervura central e a largura máxima do folíolo. A área real de cada folíolo foi determinada através de método destrutivo por meio do medidor de área “Área Meter” (modelo AM 300).

### **5.7 Avaliação da severidade da antracnose**

A severidade da antracnose foi avaliada quando as plantas encontravam-se no estágio fenológico V4, através da contagem do número e da medição do comprimento de lesões

necróticas sobre a nervura, aos 8, 10, 12 e 14 dai. Além disso, a porcentagem de área lesionada foi avaliada pela escala descritiva de Tamayo (1995) (Tabela 2), conforme descrito por Alves *et al.* (2006), aos 9 dai. O número, o comprimento de lesões e a porcentagem de área lesionada, foram avaliados nos folíolos laterais (efeito local) e no central (efeito sistêmico).

Na contagem do número de lesões, foi considerado cada necrose no tecido da nervura, alongada e de cor marrom-escuro, sintomas da antracnose, delimitada por tecido vivo. O comprimento das lesões foi medido com o auxílio de uma régua milimetrada, considerando a distância entre as extremidades longitudinais de cada lesão.

**Tabela 2.** Escala de avaliação (descritiva) para a antracnose do feijoeiro \*

Notas	Descrição
1	Sem sintomas visíveis da enfermidade.
3	Presença de muito poucas lesões de tamanho pequeno cobrindo aproximadamente 1% da área foliar.
5	Presença de várias lesões pequenas no pecíolo e nas nervuras primárias e secundárias sob as folhas.
7	Presença de numerosas lesões grandes sob as folhas. Também se podem observar lesões necróticas nas nervuras e pecíolos.
9	Necroses evidentes em 25% ou mais do tecido da planta como resultado de lesões nas folhas, pecíolos, talos, ramos e inclusive no ponto de crescimento; estas necroses causam freqüentemente a morte de grande parte dos tecidos da planta.

\* Tamayo (1995)

## 5.8 Preparo e análise microscópica de discos foliares

A análise microscópica das estruturas de infecção de *C. lindemuthianum* e do número de células com reação de hipersensibilidade foi realizada 48 horas após a inoculação (hai). Para tanto, foram coletados, com auxílio de um vazador, 3 discos de 8mm de diâmetro, dos folíolos laterais do segundo trifólio dos três cultivares.



Os materiais coletados foram preparados para a realização de análise microscópica conforme metodologia descrita por Stadnik & Buchenauer (2000): após a retirada, os discos foliares foram imediatamente colocados em placas de Petri contendo papel de filtro, previamente umedecido com solução 1 (etanol e ácido acético, 3:1, v/v), para a fixação e clareamento dos tecidos da planta. O manuseio destes discos foi cuidadosamente feito pelos seus bordos para evitar o desprendimento de conídios e não haver danos à estrutura do patossistema. Durante 3 dias foram realizadas trocas periódicas da solução 1 para o devido clareamento do material e, após, esta solução foi substituída por lactoglicerol (ácido láctico, glicerol e água, 1:1:1 v/v/v), (solução 2), para conservar o material, por até 6 meses.

A análise microscópica foi realizada com o auxílio de um microscópio óptico, binocular, no aumento de 480X (Studar Lab, Polônia). Os discos foliares foram montados em lâminas de vidro. As estruturas do fungo sobre as folhas foram coradas com azul de Aman em lactofenol (ácido láctico, 10mL; glicerina, 10mL; ácido fênico cristalizado 10g; azul de algodão, 0,1g e água destilada, 10mL).

A porcentagem de germinação e a formação de apressórios foram determinados em 100 conídios sobre os discos foliares. O número de células com reação de hipersensibilidade foi avaliado em dois discos foliares, por repetição. Os conídios considerados germinados foram aqueles que apresentaram a emissão de um tubo germinativo, independente do seu tamanho (Abreu, 2005; Paulert, 2005). Quando se observou somente o apressório, sem visualização do tubo germinativo este foi classificado como conídio germinado com apressório. A reação de hipersensibilidade foi identificada pela observação de plasmólise e pigmentação com aspecto marrom-amarelado das células. O conídio, as estruturas de infecção do fungo e a reação de hipersensibilidade das células, foram fotografados com uma câmera digital (5.1 megapixels, modelo cyber-shot DSC-P93, marca Sony).

## **5.9 Delineamento experimental e análise estatística**

O experimento foi realizado em delineamento experimental completamente casualizado, com seis repetições. As combinações entre cultivares de feijoeiro comum (Uirapuru, Mouro Graúdo e Valente) e os tratamentos com ulvana ou água representaram as unidades de investigação. O folíolo do segundo trifólio constituiu uma unidade amostral; exceção feita à avaliação da severidade de antracnose pela escala de Tamayo, na qual a unidade amostral foi a segunda folha trifoliolada.

Foram avaliadas as seguintes variáveis: comprimento das nervuras primária, secundária e terciária; área foliolar; número e comprimento de lesões, por centímetro de nervura; severidade dos sintomas de antracnose, em porcentagem de área foliar; total de conídios germinados (%), conídios germinados com apressórios (%) e número de células hipersensitivas/cm<sup>2</sup>. As variáveis analisadas compuseram as unidades de observação e os períodos de análise a condição de avaliação.

Verificou-se a homogeneidade de variâncias e a normalidade de cada grupo de dados, o que permitiu definir o uso de análise estatística paramétrica ou não-paramétrica. Em seguida, os dados paramétricos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e ocorrendo diferenças significativas, aplicou-se o teste de separação de médias pelo método de Tukey ou análise de regressão a 5% de probabilidade. Os dados não-paramétricos foram submetidos ao teste de aderência pelo método de qui-quadrado ( $\chi^2$ ), ( $p < 0,05$ ), e representados em diagrama de caixa (*boxplot*).

Para a estimativa da área foliolar foram estabelecidas regressões testando-se o modelo linear. As regressões foram determinadas, considerando-se a área foliolar real como variável dependente e as dimensões, comprimento, largura e as relações entre estas medidas, como variáveis independentes. As variáveis independentes foram: comprimento, largura máxima do folíolo, comprimento + largura, dobro da largura, quadrado da largura, comprimento x largura, dobro do comprimento e quadrado do comprimento. Foram estimadas, também, correlações entre os valores de área real e os estimados pelo modelo linear para a verificação do ajuste do modelo.

As estatísticas descritivas, os testes de homogeneidade de variâncias e de normalidade, bem como as análises paramétricas e não-paramétricas foram processados com auxílio do programa para computador SAS (versão 6.0). Os diagramas de caixa (*boxplot*) foram produzidos com o programa para computador Minitab<sup>®</sup> (release 15). Os gráficos contendo informações sobre a análise estatística foram criados em planilhas eletrônicas do programa para computador Excel<sup>®</sup> (Microsoft<sup>®</sup>).

## 6. RESULTADOS

### 6.1 Medidas foliulares

Os comprimentos das nervuras dos folíolos do segundo trifólio estão apresentados na Tabela 3 e mostraram-se muito semelhantes nos dois cultivares avaliados 11 dias após a inoculação (dai). O comprimento total foi obtido pela soma das nervuras primária, secundária e terciária, que correspondeu a 11, 34 e 55% no cv. Uirapuru e a 10,5, 34,5 e 55% no cv. Mouro Graúdo, respectivamente. A variação do comprimento da nervura primária foi maior no cv. Mouro Graúdo que no cv. Uirapuru. No entanto, a variação dos comprimentos das nervuras secundária e terciária foi menor no cv. Mouro Graúdo.

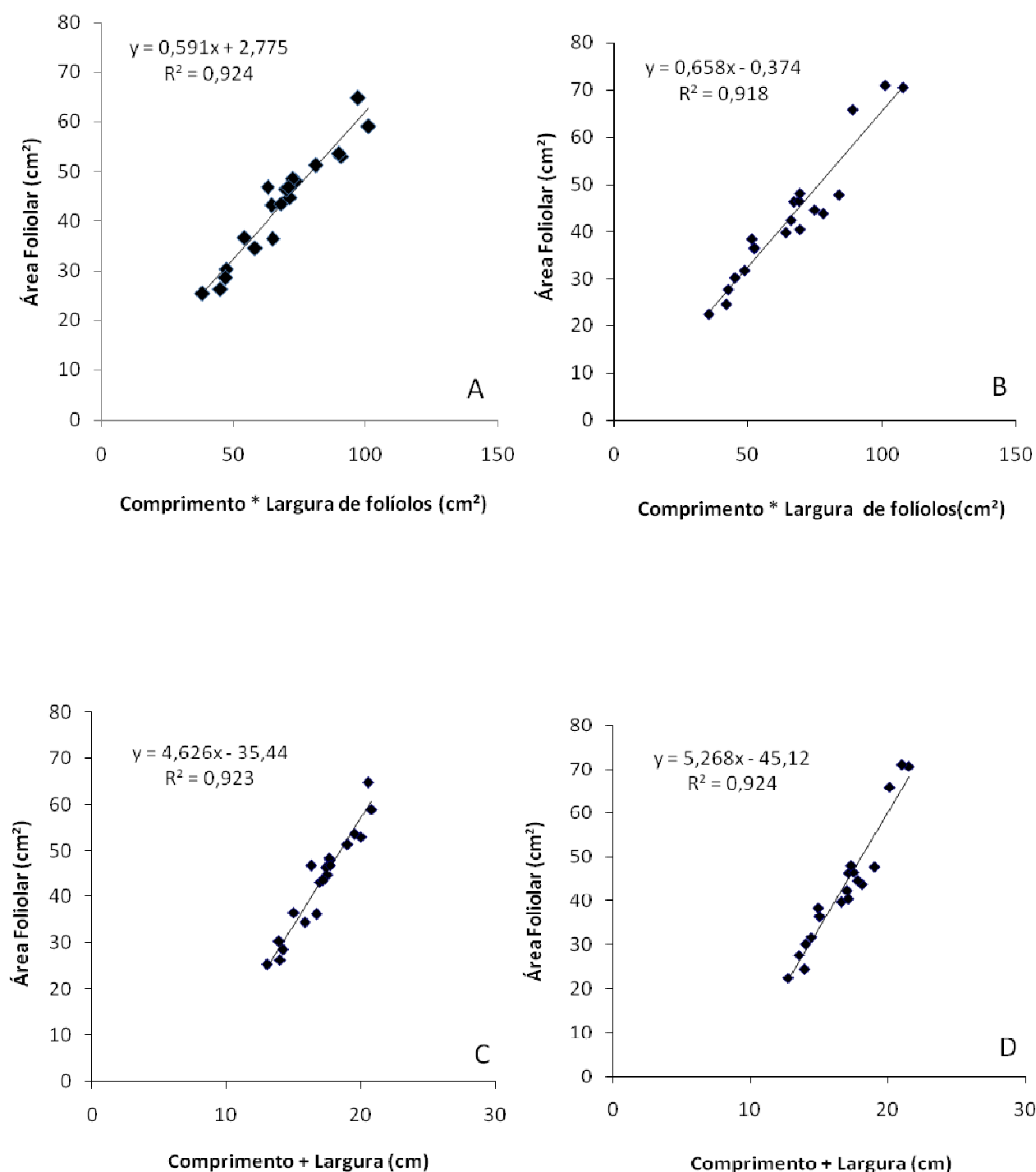
**Tabela 3.** Comprimentos das nervuras primária, secundária, terciária e total, obtidos de folíolos do segundo trifólio de cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), Uirapuru e Mouro Graúdo, aos 11 dai, no estágio fenológico V4.

Tipo de Nervura	Comprimento da Nervura (cm)			
	Uirapuru <sup>(1)</sup>	CV (%)	Mouro Graúdo <sup>(1)</sup>	CV (%)
<b>Primária</b>	9,3 ±0,4	4,5	9,2 ±1,0	11,0
<b>Secundária</b>	29,1 ±5,2	17,9	30,4 ±3,0	9,9
<b>Terciária</b>	46,9 ±7,8	16,6	48,3 ±4,1	8,5
<b>Total</b>	85,3 ±12,6	14,7	87,8 ±6,9	7,9

(1) = média de 6 repetições com duas plantas, inoculadas, por repetição.

CV = coeficiente de variação; (±) = desvio-padrão.

A estimativa da área foliolar, de modo geral, foi melhor ajustada pelo modelo de regressão linear (Figura 2). Os coeficientes de determinação “R<sup>2</sup>” (Tabela 4) entre as medidas de áreas foliulares obtidas pelo medidor de área foliar “Área Meter” e as dimensões, comprimento, largura e suas relações variaram de 0,85 a 0,92 no cv. Uirapuru e de 0,77 a 0,93 no cv. Mouro Graúdo. Os coeficientes de correlação de Pearson “r”, entre as variáveis analisadas e a área real do folíolo, apresentaram uma associação forte e positiva, nos dois cultivares. Estes coeficientes variaram de 0,88 a 0,96. Contudo, o maior grau de correlação (0,96) foi apresentado nas variáveis, produto e soma entre comprimento e largura, observado em ambos os cultivares.



**Figura 2.** Regressões lineares entre o produto (A e B) e a soma (C e D) do comprimento pela largura e a área foliolar real, em plantas de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), cvs. Uirapuru (A e C) e Mouro Graúdo (B e D), aos 15 dai, no estágio fenológico V4, 36 dias após a semeadura (das) ( $p \leq 0,05$ ).

A média da área foliar real dos folíolos dos cvs. Uirapuru e Mouro Graúdo foi de  $43\text{cm}^2$ . Tanto o produto como a soma do comprimento e largura, aplicados nas respectivas equações de ajustes lineares, resultaram o mesmo valor médio de área real ( $43\text{cm}^2$ ). Portanto,

estas equações mostraram-se mais precisas para estimar a área foliolar de feijoeiro comum, nos cvs. Uirapuru e Mouro Graúdo, com base em medidas de comprimento e largura.

**Tabela 4.** Coeficientes de determinação entre as medidas reais de áreas foliolas e as dimensões, comprimento, largura e suas relações, em folíolos de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*) cultivares, Uirapuru e Mouro Graúdo.

Variáveis	R <sup>2</sup>	
	Uirapuru	Mouro Graúdo
Largura	0,86	0,77
Comprimento	0,85	0,92
Largura * 2	0,86	0,77
Largura <sup>2</sup>	0,85	0,78
Comprimento * 2	0,85	0,92
Comprimento <sup>2</sup>	0,85	0,93
Comprimento + Largura	0,92	0,92
Comprimento * Largura	0,92	0,92

R<sup>2</sup> = coeficiente de determinação.

## 6.2 Efeito sobre a severidade da antracnose

Aos 9 dai, havia uma severidade média (nota 2,7) de muito poucas lesões necróticas, as quais apresentavam tamanho pequeno. As notas atribuídas pela escala de Tamayo (1995) à severidade da antracnose, na segunda folha trifoliolada aos 9 dai estão apresentadas na Tabela 5. Apesar das médias serem bastante semelhantes, as notas de severidade da doença, nas plantas testemunhas variaram de 1,3 a 3,3 no cv. Uirapuru e de 1,3 a 6,7 no cv. Mouro Graúdo, o que resultou num coeficiente de variação de 49%.

Pela análise de variância das notas de severidade e da área foliar infectada (Anexo 1), não houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) do tratamento, em comparação às plantas testemunhas, em nenhum dos cultivares avaliados.

**Tabela 5.** Efeito da aplicação de ulvana (10mg/mL), no controle da antracnose de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*), na segunda folha trifoliolada de cultivares Uirapuru e Mouro Graúdo, aos 9 dai, no estágio fenológico V4.

Cultivares	Severidade da antracnose			
	água		Ulvana	
	nota <sup>(1)</sup>	% de área lesionada <sup>(2)</sup>	nota <sup>(1)</sup>	% de área lesionada <sup>(2)</sup>
<b>Uirapuru</b>	2,5 <sup>ns</sup>	0,8	2,6 <sup>ns</sup>	0,8
<b>Mouro Graúdo</b>	3,0	1,0	2,3	0,7
<b>Média</b>	2,8	0,9	2,5	0,8
<b>CV (%)</b>	49%			

<sup>(1)</sup> Severidade de doença, escala de 1 a 9 (Tamayo, 1995). Média de 6 repetições com duas plantas por repetição.

<sup>(2)</sup> Porcentagem de área lesionada em relação às notas da escala de Tamayo.

ns = Não significativo pelo teste de F ( $p \leq 0,05$ ).

CV = Coeficiente de variação.

### 6.3 Efeito sobre o número de lesões

#### 6.3.1 Efeito local

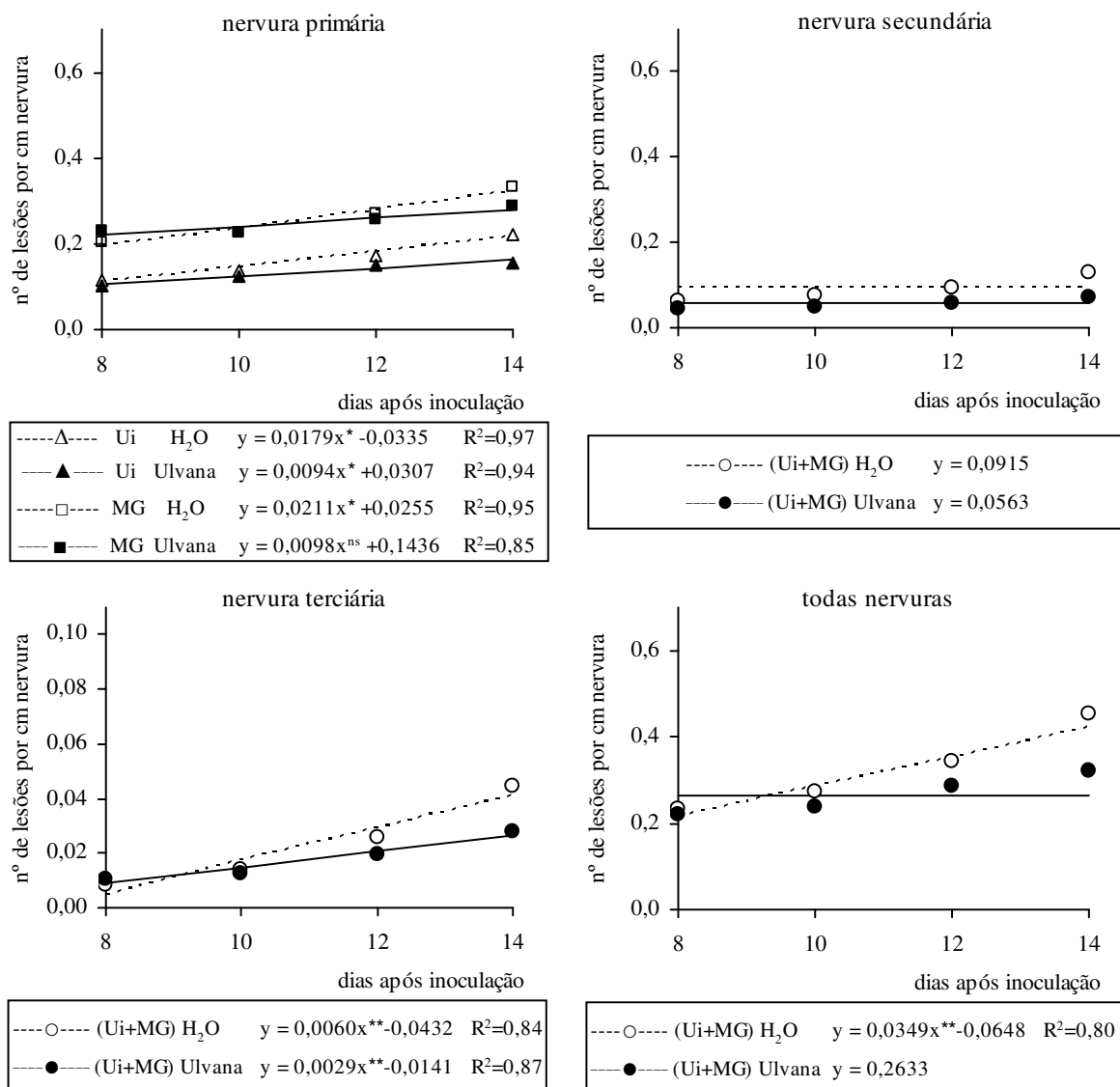
O número de lesões necróticas de antracnose avaliado aos 8, 10, 12 e 14 dai, nas nervuras do segundo trifólio dos folíolos laterais (efeito local) dos cvs. Uirapuru e Mouro Graúdo está apresentado na Figura 3 e no Anexo 2. Estas lesões aumentaram de forma gradativa durante o período avaliado. Porém, a velocidade de formação de lesões foi mais lenta nas plantas que receberam o tratamento com ulvana comparado às testemunhas. O cv. Valente não apresentou nenhuma lesão de antracnose, confirmando, assim, sua resistência à raça 73 de *C. lindemuthianum*.

A análise de variância (Anexo 3) revelou diferença significativa na evolução do número de lesões na nervura primária entre os dois cultivares. O número de lesões na nervura primária avaliado de 8 a 14 dai teve um crescimento de 92% (de 0,12 a 0,23 lesões/cm de nervura) e de 65% (de 0,20 a 0,33 lesões/cm de nervura), nas plantas testemunhas dos cvs. Uirapuru e Mouro Graúdo, respectivamente. Com a aplicação da ulvana a taxa de crescimento

do número destas lesões de 8 a 14 dai foi reduzida significativamente ( $p < 0,05$ ) em 45% no cv. Uirapuru e em 54% no cv. Mouro Graúdo.

A ANOVA também revelou diferença significativa sobre o número de lesões, na interação tempo/tratamento nas demais nervuras dos dois cultivares, Uirapuru e Mouro Graúdo (Ur + MG), não havendo, porém, modelo estatístico para os tratamentos da nervura secundária e para o tratamento com ulvana em todas as nervuras (Anexo 4). Na nervura terciária das testemunhas dos dois cultivares (Ur + MG) o crescimento do número de lesões de 8 a 14 dai foi de 300%. A taxa de crescimento do número de lesões de antracnose foi reduzida de forma significativa ( $p < 0,05$ ) pela aplicação da ulvana em 67% na terciária, no mesmo período de avaliação. O aumento de formação de lesões em todas as nervuras dos folíolos laterais das plantas testemunhas de ambos os cultivares (Ur + MG), de 8 a 14 dai, foi de 87,5% (de 0,24 a 0,45 lesões/cm de nervura).

O desenvolvimento das lesões ao longo do tempo, nas nervuras analisadas foi representado em um modelo de regressão simples e linear. Os gráficos deste modelo com a reta ajustada e as equações de ajuste, estão apresentados na Figura 3. Os coeficientes de determinação “R<sup>2</sup>” de uma maneira geral indicaram que as regressões ajustaram-se bem às retas. As correlações entre as variáveis foram positivas e fortes e variaram de 0,92 a 0,98. O intercepto “a” e o coeficiente angular “b” das equações de regressão (Anexo 5) mostraram o melhor ajuste de adequação das retas ao conjunto de dados das variáveis. O coeficiente “b” foi significativamente diferente de zero ( $p \leq 0,05$ ), na maioria das retas, confirmando o crescimento do número de lesões de 8 a 14 dai. Entretanto, observando-se as retas da nervura secundária e a reta do tratamento com ulvana em todas as nervuras, paralelas ao eixo “x”, percebeu-se que não houve correlação, ou seja,  $b = 0$ , portanto,  $r = 0$ , demonstrando que o número de lesões manteve-se inalterado durante todo o período avaliado.



**Figura 3.** Efeito local da ulvana (10mg/mL), aplicada 6 e 3 dias antes da inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*, sobre o número de lesões necróticas de antracnose nas nervuras primárias de folíolos laterais de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) cvs. Uirapuru (Ur) e Mouro Graúdo (MG) e nas secundárias, terciárias e em todas as nervuras dos dois cultivares (Ur + MG), avaliadas aos 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4.

\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; <sup>ns</sup> não significativo.

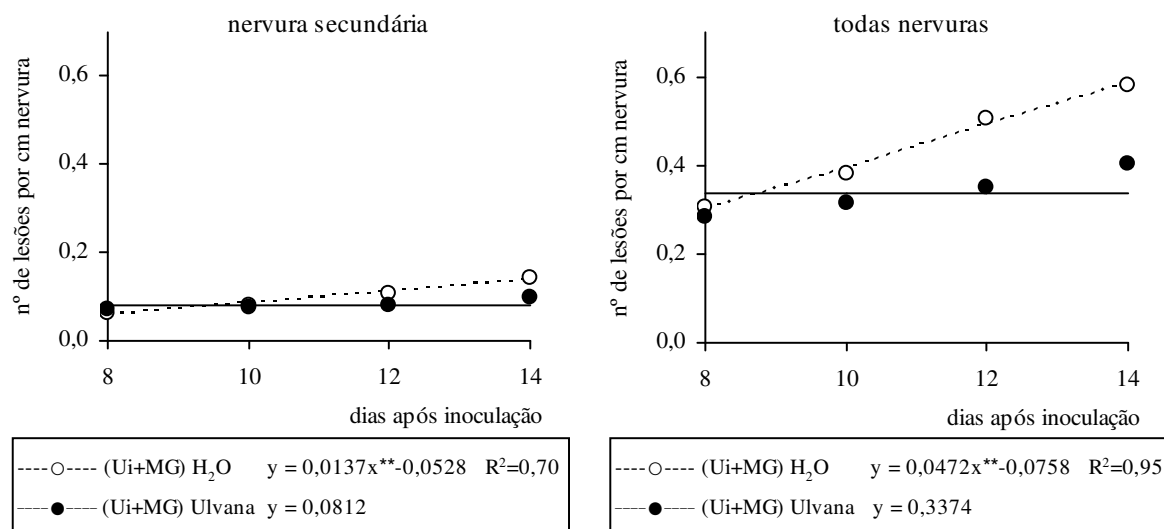


### 6.3.2 Efeito sistêmico

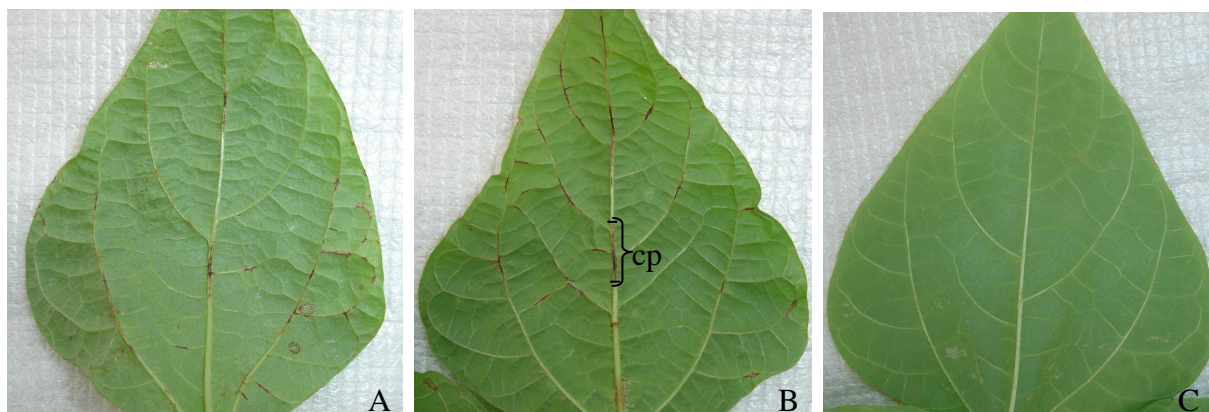
O número de lesões avaliado aos 8, 10, 12 e 14 dai, nas nervuras do folíolo central (efeito sistêmico) está apresentado na Figura 4 e no Anexo 6. O efeito sistêmico foi observado no segundo trifólio dos cvs. Uirapuru (Figura 5A), Mouro Graúdo (Figura 5B) e Valente (Figura 5C). O número de lesões cresceu de forma gradativa de 8 a 14 dai. Porém, a velocidade no desenvolvimento destas lesões foi mais lenta nas plantas previamente tratadas com ulvana.

A análise de variância (Anexo 7) mostrou diferença significativa, sobre o desenvolvimento das lesões, na interação tempo/tratamento na nervura secundária e no total de nervuras dos dois cultivares (Ur + MG), não havendo modelo estatístico para os tratamentos com ulvana (Anexo 8). O aumento do número de lesões, avaliado entre 8 e 14 dai, na nervura secundária das testemunhas dos cultivares (Ur + MG) foi de 133% (de 0,06 a 0,14 lesões/cm de nervura). A ulvana neste mesmo período manteve inalterado o aumento do número de lesões na nervura secundária destes cultivares. A taxa de crescimento do número de lesões em todas as nervuras do folíolo central das plantas testemunhas, foi de 93% (de 0,30 a 0,58 lesões/cm de nervura). A ulvana também manteve inalterado o aumento do número de lesões em todas as nervuras do folíolo central dos dois cultivares (Ur + MG).

O número de lesões necróticas de antracnose no folíolo central, de 8 a 14 dai, foi apresentado em regressões simples e lineares, cujos gráficos com as respectivas retas e equações estão apresentados na Figura 4. Os coeficientes de determinação “R<sup>2</sup>” mostraram um bom ajuste das regressões às retas. As correlações foram fortes e positivas, variando de 0,83 a 0,97. Os ajustes das equações (Anexo 9) mostraram que os coeficientes de inclinação de retas “b” foram significativamente diferentes de zero nas plantas testemunhas. Porém, nas plantas previamente tratadas com ulvana não houve diferença (b = 0) indicando um maior controle no desenvolvimento das lesões ao longo do tempo, em relação às testemunhas.



**Figura 4.** Efeito sistêmico da ulvana (10mg/mL), aplicada 6 e 3 dias antes da inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*, sobre o número de lesões necróticas de antracnose na nervura secundária e em todas as nervuras do folíolo central de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) cvs. Uirapuru mais Mouro Graúdo (Ur + MG), avaliadas aos 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4. \*\*  $p < 0,01$ .



**Figura 5.** Lesões necróticas de antracnose, de cor marrom-escura, nas nervuras primária, secundária e terciária da face abaxial de folíolo central do segundo trifólio de cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*), Uirapuru (A) e Mouro Graúdo (B), 14 dai com *Colletotrichum lindemuthianum*. O cv. Valente (C), mostrou-se resistente à antracnose. cp = comprimento de uma lesão.

## 6.4 Efeito sobre o comprimento de lesões

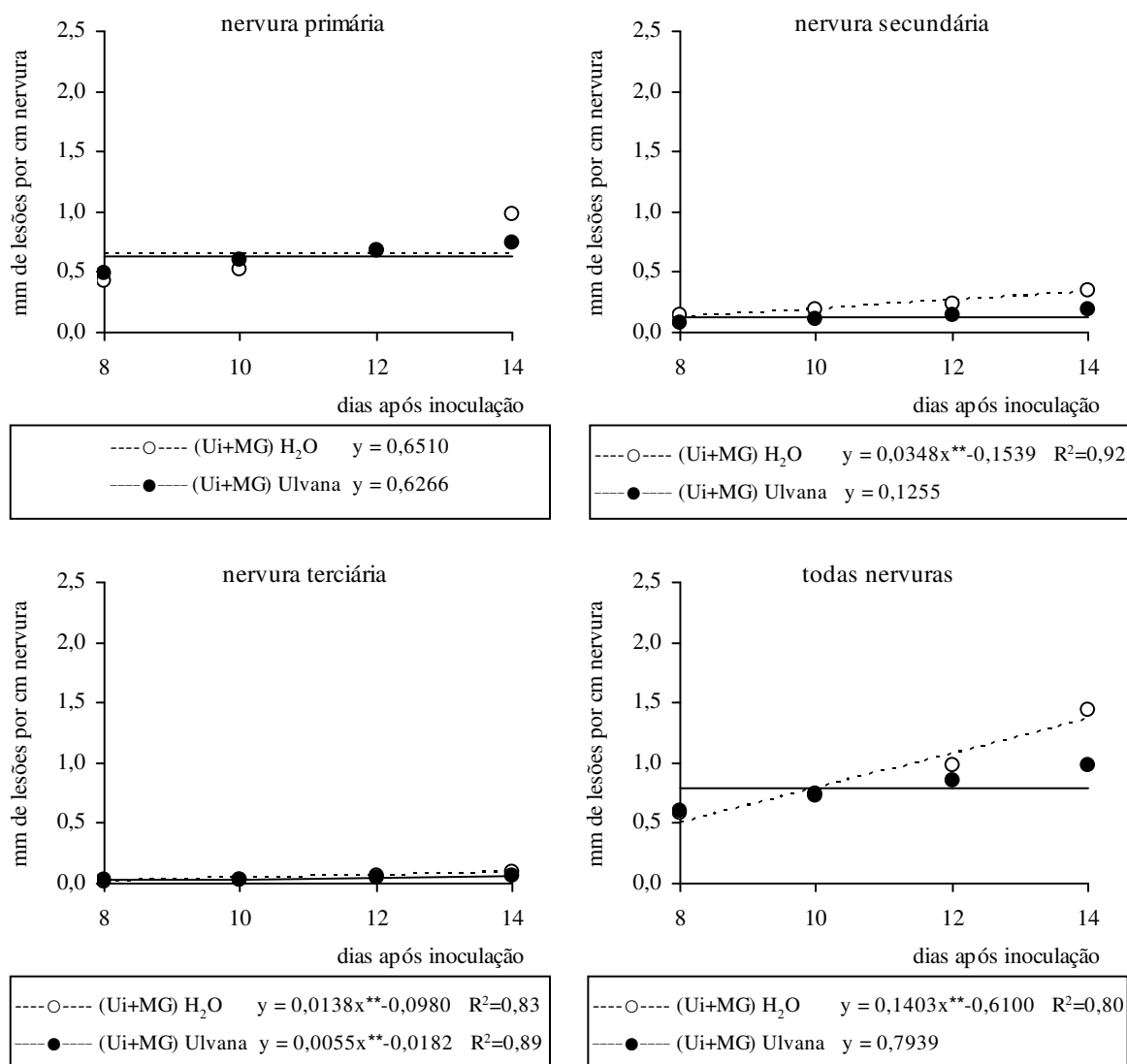
### 6.4.1 Efeito local

O comprimento das lesões nos folíolos laterais (efeito local) do segundo trifólio dos cultivares suscetíveis à antracnose aos 8, 10, 12 e 14 dai, está apresentado na Figura 6 e no Anexo 10. O comprimento aumentou em todas as nervuras durante o período de avaliação. Entretanto, a evolução das lesões foi mais lenta nas plantas previamente tratadas com ulvana, comparado às testemunhas.

A ANOVA (Anexo 11) revelou diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ), na evolução do comprimento das lesões, na interação tempo/tratamento em todos os tipos de nervuras dos dois cultivares (Ur + MG), não havendo modelo estatístico para os tratamentos (água e ulvana) da nervura primária e para os tratamentos com ulvana da nervura secundária e todas nervuras (Anexo 12).

O aumento no tamanho das lesões na nervura primária dos folíolos laterais das plantas testemunhas e das plantas tratadas dos cultivares de feijoeiro (Ur + MG) analisado de 8 a 14 dai, não sofreu alteração durante o período de avaliação. Já nas nervuras secundárias, terciárias e em todas as nervuras das plantas testemunhas o aumento no tamanho das lesões foi de 150% (de 0,14 a 0,35mm/cm de nervura), de 400% (de 0,02 a 0,10mm/cm de nervura) e de 147% (de 0,58 a 1,43mm/cm de nervura), respectivamente. A ulvana reduziu o aumento do comprimento das lesões de 8 a 14 dai, em 63% nas nervuras terciárias dos folíolos destes cultivares (Ur + MG). O tratamento com a ulvana manteve inalterado o aumento do tamanho das lesões nas nervuras secundárias e no total de nervuras dos folíolos laterais dos cultivares, durante o período de avaliação.

O crescimento do comprimento das lesões nas nervuras foi apresentado em gráficos de regressão linear (Figura 6). Os coeficientes de determinação “R<sup>2</sup>” indicaram um bom ajuste das retas de regressão. As correlações foram fortes e positivas variando de 0,89 a 0,96. O coeficiente angular “b”, dos ajustes das equações (Anexo 13) foi significativamente diferente de zero na maioria das retas, mostrando o crescimento do tamanho das lesões durante as quatro avaliações. Porém, observando-se as retas da nervura primária e as retas do tratamento com ulvana da nervura secundária e em todas nervuras, paralelas ao eixo “x”, percebeu-se que não houve correlação, ou seja,  $b = 0$ , portanto,  $r = 0$ , demonstrando que o número de lesões manteve-se inalterado durante todo o período avaliado.



**Figura 6.** Efeito local da ulvana (10mg/mL), aplicada 6 e 3 dias antes da inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*, sobre o comprimento de lesões necróticas de antracnose, nas nervuras primária, secundária, terciária e em todas as nervuras dos folíolos laterais de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) cvs. Uirapuru mais Mouro Graúdo (Ur + MG), avaliado aos 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4. \*\*  $p < 0,01$ .

#### 6.4.2 Efeito sistêmico

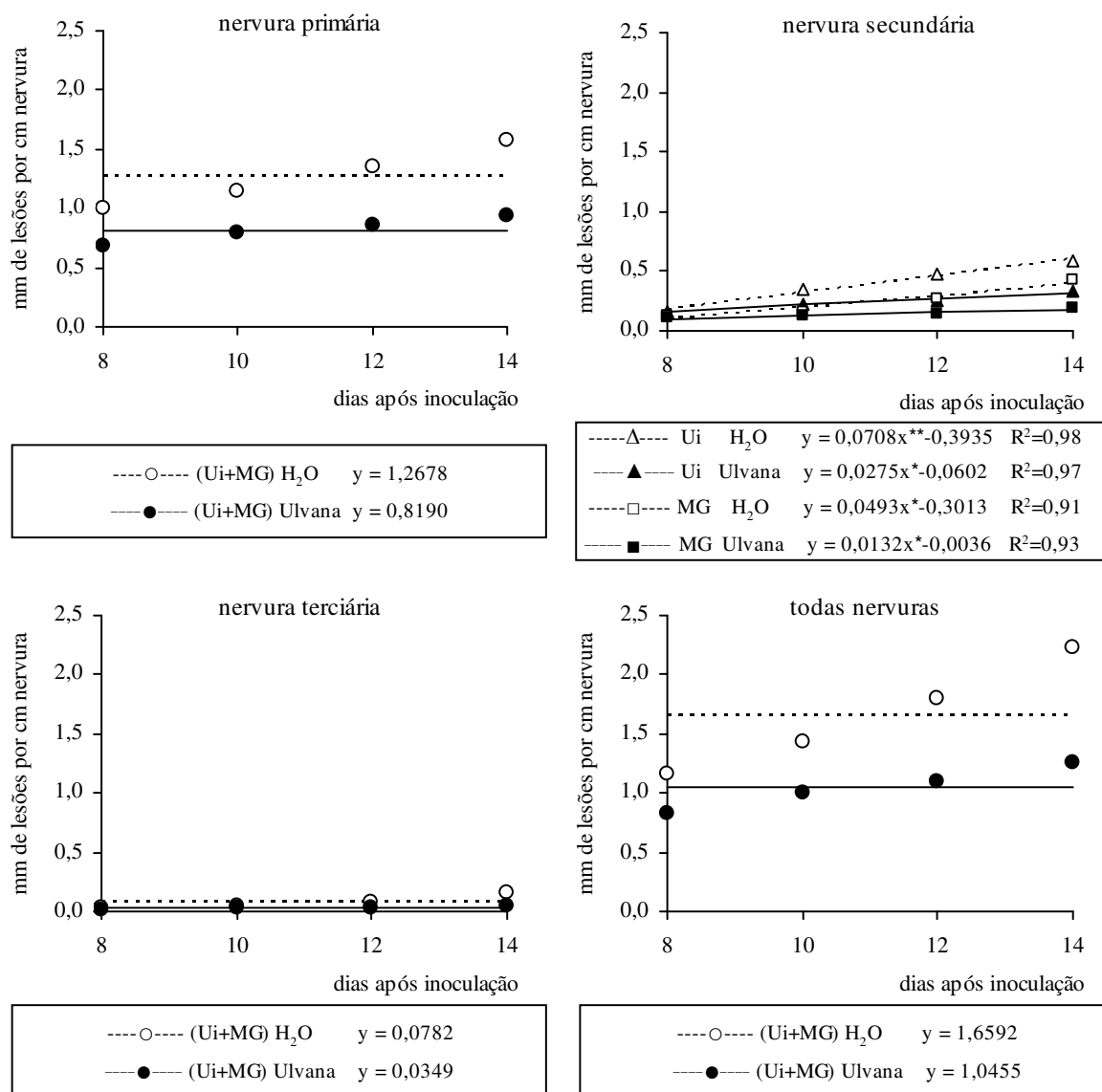
O comprimento das lesões (Figura 5B) no folíolo central (efeito sistêmico) dos cvs. Uirapuru e Mouro Graúdo, 8, 10, 12 e 14 dai, está apresentado na Figura 7 e no Anexo 14. O comprimento destas lesões aumentou a cada dia avaliado, porém de forma mais lenta nas plantas previamente tratadas com ulvana.

A análise de variância (Anexo 15) revelou diferença significativa, entre os tratamentos e os cultivares, na evolução do comprimento das lesões na nervura secundária, porém, não houve modelo estatístico para os tratamentos (água e ulvana) das nervuras primárias, terciárias e de todas as nervuras (Anexo 16).

O aumento do comprimento das lesões na nervura secundária dos folíolos das plantas testemunhas do cv. Uirapuru, de 8 a 14 dai, foi de 287% (de 0,15 a 0,58mm/cm de nervura) e do cv. Mouro Graúdo de 223% (de 0,13 a 0,42mm/cm de nervura). A ulvana reduziu ao final deste período em 58 e 72% a velocidade de crescimento das lesões na nervura secundária do folíolo central, dos cvs. Uirapuru e Mouro Graúdo, respectivamente.

O aumento no tamanho das lesões nas nervuras primárias e terciárias e de todas as nervuras dos folíolos centrais das plantas testemunhas e das plantas tratadas dos cultivares de feijoeiro (Ur + MG) analisado de 8 a 14 dai, não sofreu alteração durante o período de avaliação.

O crescimento do comprimento das lesões nas quatro avaliações foi apresentado em gráficos de regressão linear (Figura 7). O coeficiente de determinação “R<sup>2</sup>” das retas de regressão indicaram um bom ajuste do modelo linear. A associação entre as variáveis na nervura secundária foi muito forte e positiva, variando de 0,95 a 0,99. Os coeficientes de inclinação das retas “b” dos ajustes das equações (Anexo 17) foram significativos ( $p \leq 0,05$ ) nas retas de regressão da nervura secundária, indicando que houve aumento no comprimento das lesões ao longo do tempo. Porém, observando-se as retas das nervuras primárias e terciárias e de todas as nervuras de ambos os tratamentos (água e ulvana), paralelas ao eixo “x”, percebeu-se que não houve correlação, ou seja,  $b = 0$ , portanto,  $r = 0$ , demonstrando que o número de lesões manteve-se inalterado durante todo o período avaliado.

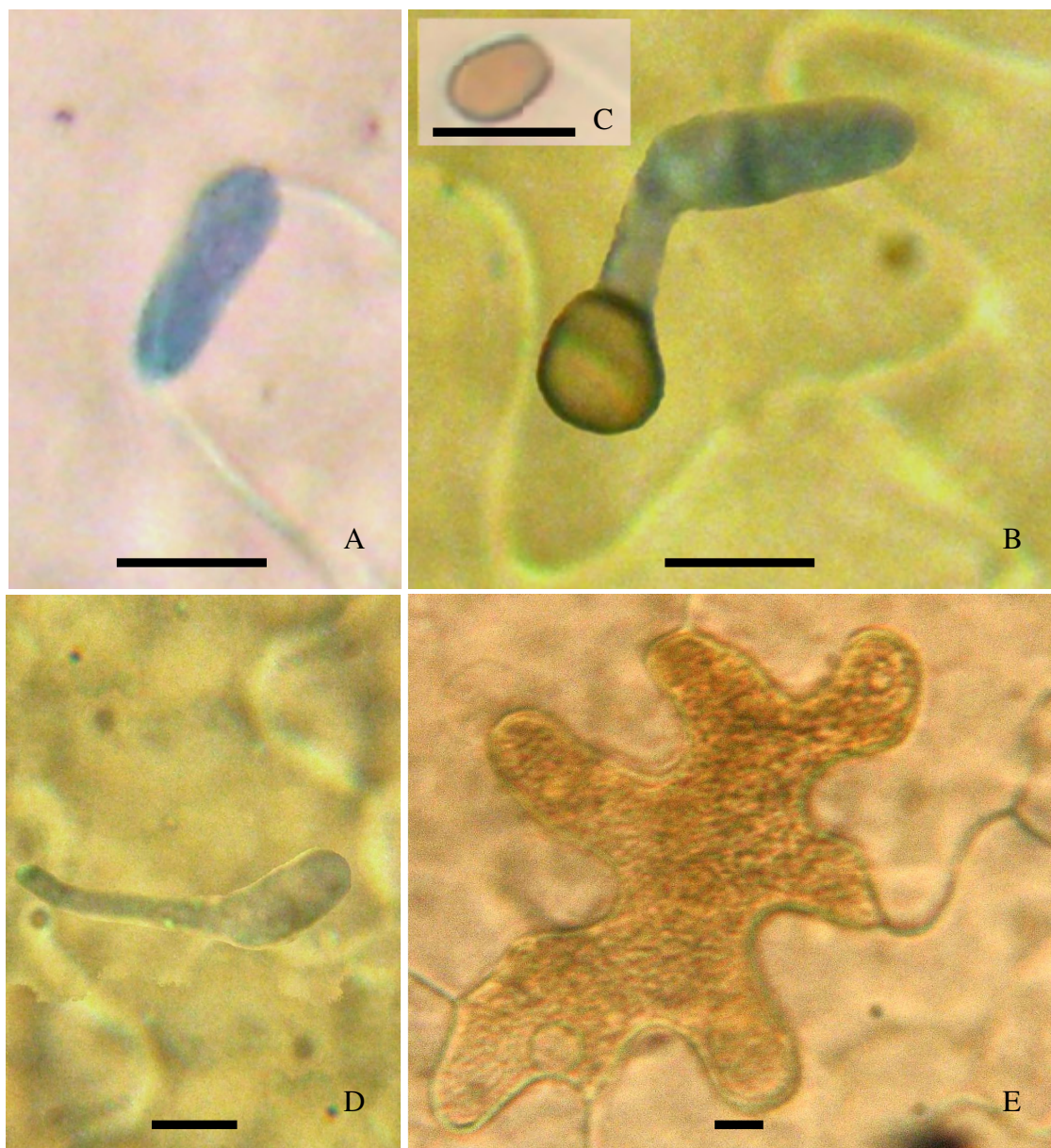


**Figura 7.** Efeito sistêmico da ulvana (10mg/mL), aplicada 6 e 3 dias antes da inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*, sobre o comprimento de lesões necróticas de antracnose, nas nervuras secundárias do folíolo central de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) cvs. Uirapuru (Ur) e Mouro Graúdo (MG) e nas primárias, terciárias e em todas as nervuras dos dois cultivares (Ur + MG), avaliado aos 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4.

\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ .

### 6.5 Germinação de conídios, formação de apressórios de *Colletotrichum lindemuthianum* e reação de hipersensibilidade

O conídio, as estruturas de infecção de *C. lindemuthianum* e a reação de hipersensibilidade em células de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), observados 48 hai, estão ilustrados na Figura 8.



**Figura 8.** Conídio, estruturas de infecção de *Colletotrichum lindemuthianum* e reação de hipersensibilidade, desenvolvidos na superfície abaxial do 2º trifólio de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), cultivares Uirapuru, Mouro Graúdo e Valente, visualizados, 48 hai, por meio de microscopia óptica (480x). Barra = 10μ. (A) Conídio; (B) conídio com tubo germinativo e apressório; (C) apressório melanizado; (D) conídio com tubo germinativo; (E) reação de hipersensibilidade.



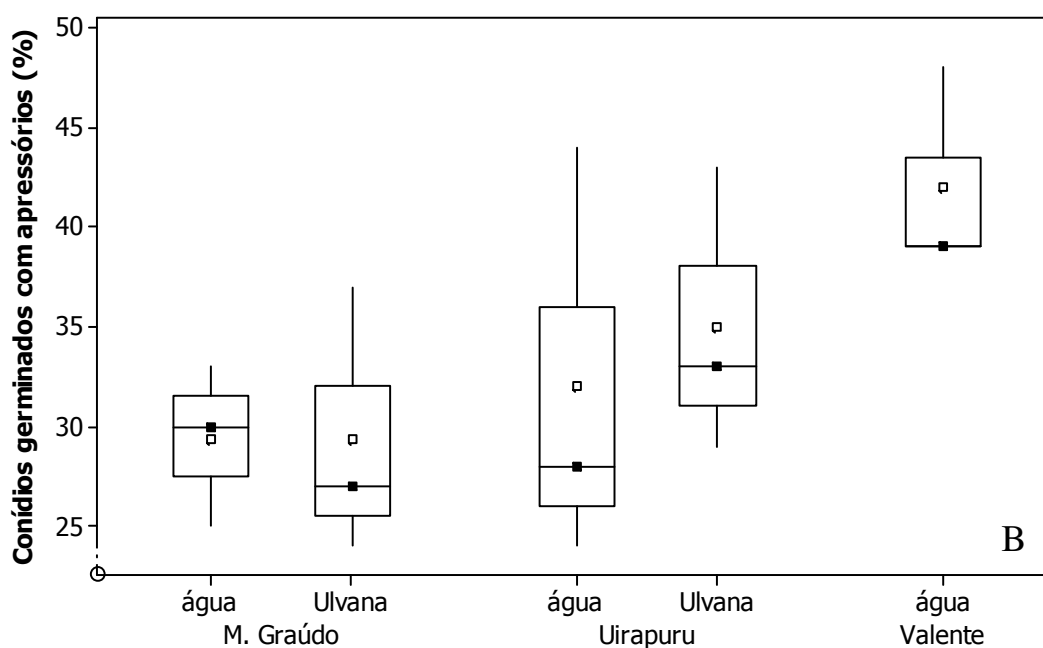
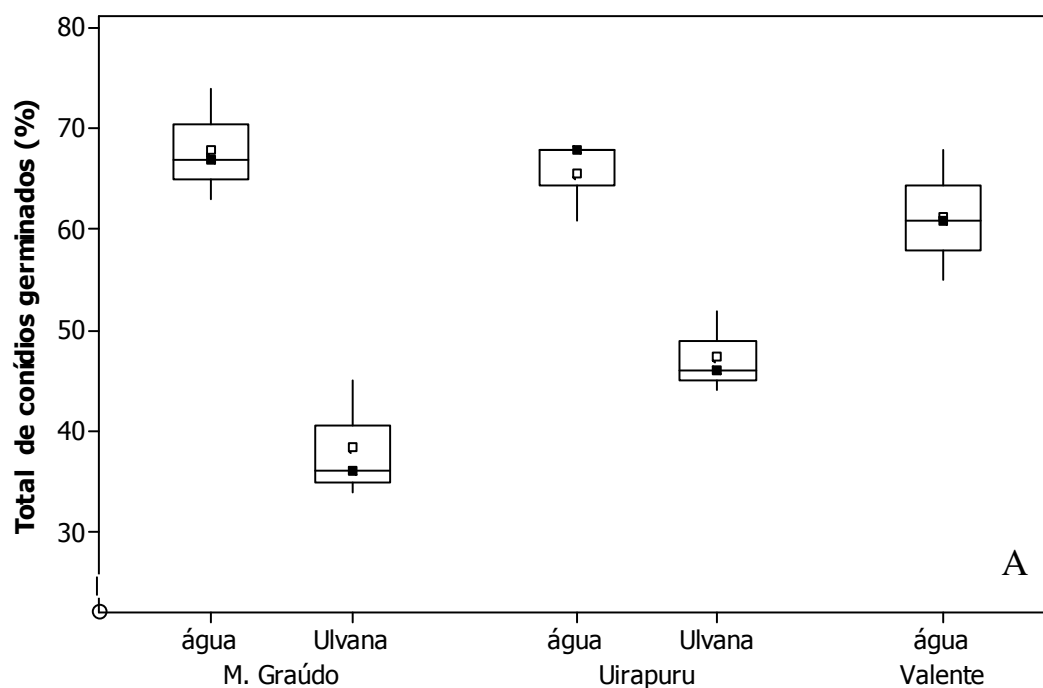
A porcentagem de conídios germinados avaliada 48 hai, por microscopia óptica, sobre folíolos laterais do segundo trifólio dos três cultivares estudados, está apresentada como diagrama de caixa na Figura 9A. A porcentagem de germinação foi maior nas plantas testemunhas, com 68, 66 e 61% nos cvs. Mouro Graúdo, Uirapuru e Valente, respectivamente.

O teste de qui-quadrado ( $\chi^2$ ) (Anexo 14), revelou diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) na germinação de conídios entre os tratamentos nos cvs. Mouro Graúdo e Uirapuru. A aplicação de ulvana reduziu, em relação às testemunhas, a germinação de conídios em 44 e 29% nos cvs. Mouro Graúdo e Uirapuru, respectivamente.

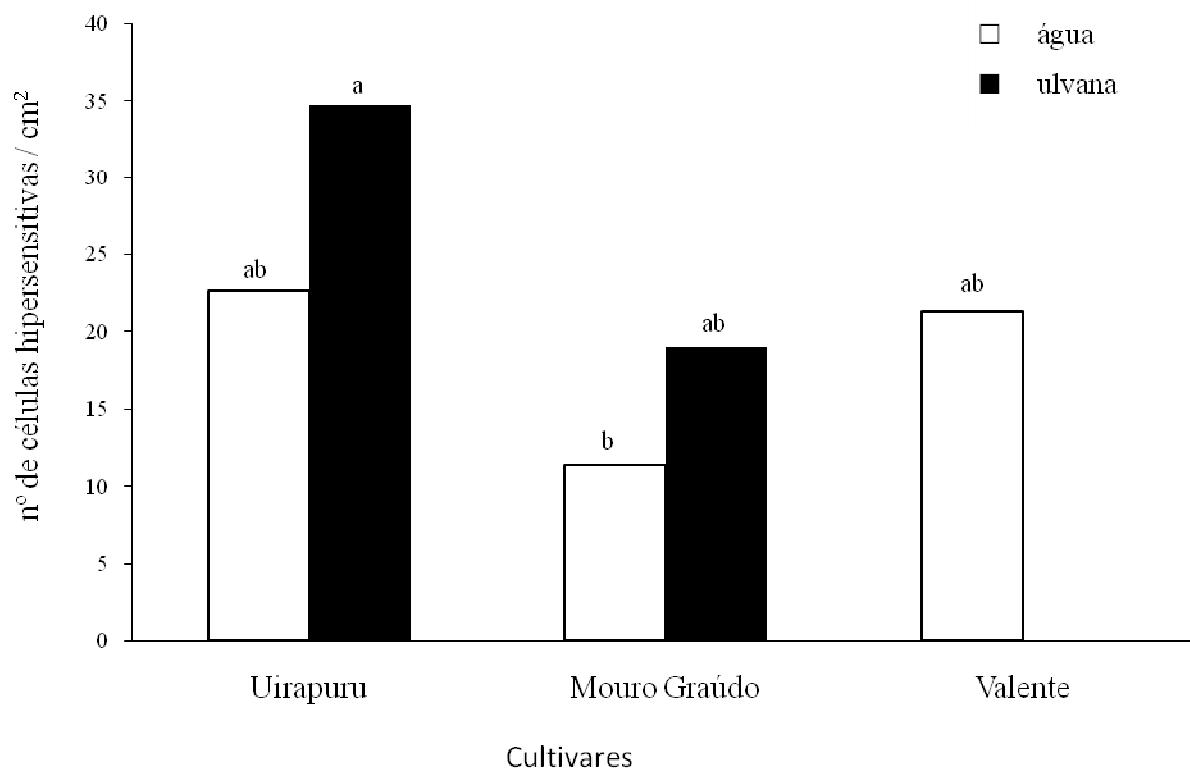
A porcentagem de formação de tubo germinativo sem apressório (Figura 8D) foi sempre superior nas testemunhas com 39, 34 e 19% nos cvs. Mouro Graúdo, Uirapuru e Valente, respectivamente. A maior porcentagem de formação de apressórios (42%) foi encontrada no cultivar resistente à antracnose, Valente (Figura 9B). Observou-se somente um apressório por conídio germinado (Figura 8B). Não houve diferença na formação de apressórios entre os tratamentos nos cultivares suscetíveis, Mouro Graúdo e Uirapuru. Porém, pelo diagrama de caixa observou-se que as plantas testemunhas do cv. Mouro Graúdo apresentaram 31% menos apressórios comparado ao cv. Valente, diferindo significativamente ( $p < 0,05$ ). Todos os apressórios observados encontravam-se melanizados (Figura 8C). Algumas vezes observou-se apenas o apressório sobre o tecido foliar, devendo ter ocorrido o desprendimento das outras estruturas.

O número de células com reação de hipersensibilidade (Figura 8E) por  $\text{cm}^2$ , 48 hai, nos três cultivares de feijoeiro comum está apresentado na Figura 10. O número de células hipersensitivas nas plantas testemunhas foi 23, 21 e 11 células/ $\text{cm}^2$  nos cvs. Uirapuru, Valente e Mouro Graúdo, respectivamente. Não houve diferença na formação de células com reação de hipersensibilidade entre os tratamentos nos cvs. Uirapuru e Mouro Graúdo. Porém, o número de células hipersensitivas foi significativamente maior ( $p < 0,05$ ) nas plantas do cv. Uirapuru (35 células/ $\text{cm}^2$ ), tratadas com ulvana, que naquelas das plantas testemunhas de Mouro Graúdo (11 células/ $\text{cm}^2$ ). Em cada folíolo dos cultivares suscetíveis, com área de  $43\text{cm}^2$  (item 6.1), o número de células hipersensitivas nas testemunhas e nas plantas tratadas foi, respectivamente, 989 e 1505 no cv. Uirapuru e 473 e 817 no cv. Mouro Graúdo.





**Figura 9.** Diagramas de caixa da porcentagem de conídios germinados de *Colletotrichum lindemuthianum* (A - acima) e dos apressórios formados (B - abaixo) sobre folíolos de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) cvs. Mouro Graúdo, Uirapuru e Valente, no estágio fenológico V4, 48 hai. Legenda: -- mediana; □ média; | barras indicam o desvio padrão; □ extremidade das caixas indicam quartil 1 (extremidade inferior) e quartil 3 (extremidade superior).



**Figura 10.** Reação de hipersensibilidade em células de folíolos laterais de três cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), Uirapuru, Mouro Graúdo e Valente, previamente tratados com ulvana (10mg/mL), 6 e 3 dias antes da inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*, avaliada em microscópio óptico (480x), 48 hai, no estágio fenológico V4. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos (Tukey, p<0,05).

## 7. DISCUSSÃO

A área foliolar foi determinada no estágio fenológico V4, por método direto, para verificar possíveis diferenças entre os cultivares suscetíveis à antracnose, Uirapuru e Mouro Graúdo, de modo a permitir conversões dos valores da severidade de doença e reações de defesa da planta, para uma unidade de área fixa. Entretanto, de acordo com os resultados apresentados na Figura 2, a área foliolar, neste estágio foi muito semelhante entre estes cultivares. Estudos têm evidenciado a praticabilidade e eficiência de métodos para a estimar a área foliar, sobretudo aqueles diretos, determinados no local onde se desenvolve a planta (Oliveira & Barreto, 1980; Queiroga *et al.*, 2003).

Diversos métodos destrutivos e não-destrutivos vêm sendo desenvolvidos para a determinação da área foliar (Benincasa, 1988). Neste trabalho, a área foliolar foi estimada por meio do cálculo do produto e da soma do comprimento pela largura máxima do folíolo. Para isto, usou-se o método não-destrutivo, que é simples, rápido e permite a medição das mesmas plantas diversas vezes durante o seu ciclo de desenvolvimento (Oliveira *et al.*, 2002; Queiroga *et al.*, 2003; Severino *et al.*, 2004). O método apresentado nesta pesquisa utilizou poucas variáveis, a área calculada teve pouca diferença da área real das folhas ( $R^2 = 0,92$ ) (Tabela 4) e a equação foi simples do tipo linear. Segundo Oliveira *et al.* (2002), estas são condições mínimas necessárias para que o método seja utilizável e confiável.

A área foliar real tem sido determinada indiretamente por equações envolvendo o comprimento e a largura de folhas de diferentes espécies monocotiledôneas como a taboa (*Typha latifolia*) (Bianco *et al.*, 2003), e dicotiledôneas tais como cagaiteira (*Eugenia dysenterica* D. C.), feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) e mangabeira (*Hancornia speciosa* Gom.) (Oga & Fonseca, 1994; Fonseca & Condé, 1994). Em todos os casos citados o coeficiente de determinação tem sido descrito como superior a 0,90, de modo semelhante aos resultados encontrados neste experimento. Em feijoeiro com crescimento determinado, Queiroga *et al.* (2003), com o objetivo de estabelecer um modelo matemático para estimar a área foliar, utilizaram a largura máxima do folíolo central, com base em cinco medidas de 21 a 51 dias após a emergência (dae). Estes pesquisadores concluíram que o modelo de potência é adequado para estimar a área foliar ( $R^2 = 0,98$ ) pelo método não-destrutivo. De modo contrário, quando se utilizou somente a largura, o  $R^2$  foi 0,86 e 0,77 nos cvs. Uirapuru e Mouro Graúdo, respectivamente. Estes coeficientes de determinação inferiores aos encontrados por estes pesquisadores, utilizando esta variável, se deve, talvez, aos

seguintes motivos: (1) foi utilizado um genótipo diferente do que Queiroga *et al.* (2003) utilizaram; e/ou (2) o cultivar utilizado apresentava hábito de crescimento indeterminado; e/ou (3) porque foram usadas as medidas tomadas de uma única vez, aos 36 dae. Portanto, para escolher os modelos e variáveis mais adequados que descrevem a área foliar é necessário sempre realizar um estudo prévio. Para os cvs. Uirapuru e Mouro Graúdo, o modelo linear estimou a área foliolar tanto pelo produto como pela soma do comprimento pela largura máxima do folíolo, pelo método não-destrutivo.

Os comprimentos das nervuras foram muito semelhantes entre os cvs. Uirapuru e Mouro Graúdo (Tabela 3). Apesar disso, a conversão do número e comprimento de lesões por centímetro de nervura possibilita comparações futuras com outros trabalhos envolvendo estas variáveis para a avaliação da antracnose do feijoeiro, visto que tanto a área foliar como o comprimento das nervuras pode ser afetado por diferentes condições abióticas (nutrição, luminosidade, deficiência hídrica, temperatura) de cultivo do feijoeiro (Dourado Neto & Fancelli, 2000).

A escala descritiva de notas, normalmente empregada pelos pesquisadores na avaliação da severidade da antracnose do feijoeiro (Loffaguen *et al.*, 2005; Paulert, 2005; Abreu, 2005; Alves *et al.*, 2006), foi utilizada de forma complementar ao método de avaliação da severidade pela contagem e medição das lesões necróticas. A severidade da doença avaliada aos 9 dai pela escala de Tamayo (Tabela 5), confirmou os resultados obtidos aos 8 dai, pela contagem e medição de lesões. Isto é, não se detectou diferença significativa entre a ulvana e a testemunha, bem como entre os cultivares. Ao contrário, Paulert (2005) utilizando a escala de Tamayo, observou aos 7 dai redução significativa na severidade da antracnose usando os mesmos cultivar (Uirapuru), tratamento e isolado de *C. lindemuthianum*. Três hipóteses podem ser discutidas para tentar explicar as discrepâncias entre estes resultados: 1) a escala de Tamayo não seria sensível o suficiente para verificar pequenas alterações na severidade. Note, por exemplo, que a nota 2 pode variar de 0 a 1% de área foliar lesionada. No entanto, isto é pouco provável, pois a avaliação mais precisa usando o método de medição e contagem de lesões também não revelou diferenças entre os tratamentos; 2) a proteção obtida pela ulvana teria sido, por motivo desconhecido, expressa mais fracamente que no trabalho de Paulert (2005). Sabe-se que a indução de resistência é afetada por fatores ambientais, como temperatura, radiação ultravioleta, nutrição (Stadnik & Maraschin, 2004; Athayde sobrinho *et al.*, 2005). Isto é, aliás, um dos principais fatores limitantes desta técnica; e/ou 3) a expressão de resistência teria sido atrasada por interferência da temperatura, umidade ou outros fatores ambientais

durante o tratamento com ulvana e/ou inoculação do patógeno (Balardin, 2007). Embora o efeito da ulvana possa ter sido pequeno, somente este tipo de análise mais apurada, através da contagem e medição de lesões no tempo, possibilitou que se encontrasse uma diferença entre os tratamentos, o que pode contribuir como mais uma ferramenta útil para a avaliação da severidade da antracnose.

A severidade da antracnose foi avaliada, neste experimento, em três cultivares com diferentes níveis de resistência. O cv. Valente não apresentou sintomas de antracnose confirmando sua resistência à raça 73 de *C. lindemuthianum* (Loffaguen *et al.*, 2005; Sartorato, 2003). Este genótipo revelou resistência total, que geralmente é monogênica e raça-específica. Esta resistência é denominada de vertical (qualitativa), que segundo Van Der Plank (1968), é conferida por um ou pouco genes, que conferem resistência a uma ou poucas raças fisiológicas do patógeno e, normalmente, é pouco estável. Já a resistência quantitativa é um tipo de resistência incompleta, poligênica, que proporciona uma baixa taxa de desenvolvimento da doença no campo (Parlevliet, 1979). Em trabalho clássico, Flor (1955) propôs a existência de um sistema de reconhecimento gene-a-gene, com interação específica: uma planta com o gene dominante de resistência *R* reconhece um patógeno com o gene dominante de avirulência *avr* correspondente, assim a presença do gene *avr* torna o patógeno não-virulento se a planta tiver o gene *R* apropriado (Barbieri & Carvalho, 2001). Embora o cv. Valente apresentou-se resistente à antracnose neste experimento, é importante destacar que, segundo Medeiros (2004), a complexidade que envolve a variabilidade patogênica de *C. lindemuthianum* torna difícil a obtenção de cultivares com resistência duradoura a este patógeno.

Apesar de a grande maioria das plantas ser resistente a maior parte dos patógenos, por possuírem um amplo arranjo de componentes constitutivos de defesa e/ou bloqueio físico da entrada de microrganismos, muitas plantas cultivadas são suscetíveis a um determinado número de patógenos, capazes de causar enormes perdas de produtividade (Barbieri & Carvalho, 2001). Em feijoeiro, estas perdas são tanto maiores quanto mais precoce for o aparecimento da doença na lavoura e podem chegar a 95% em cultivar suscetível inoculado com *C. lindemuthianum* de uma a sete semanas após a germinação (Rava & Sartorato, 1994).

Todas as plantas, na natureza, desenvolvem-se sob constante ameaça de seus inimigos, sejam eles herbívoros ou patógenos. Porém, as plantas não aceitam passivamente a agressão de seus inimigos, mas apresentam barreiras já existentes antes do ataque, que visam conter esta agressão. Estas barreiras são denominadas de defesas constitutivas e são

representadas por estruturas, como: ceras, cutícula, parede celular espessa, tricomas, bem como substâncias químicas pré-formadas, como os fenóis, alcalóides, fototoxinas, inibidores protéicos e enzimas hidrolíticas. Por outro lado, há mecanismos de defesa que se manifestam somente quando a planta é desafiada por um agressor. Estes mecanismos envolvem a formação de papila, halos, lignificação, além de compostos como fitoalexinas, proteínas relacionadas à patogênese (Proteínas – RP) e espécies reativas de oxigênio (Pascholati & Leite, 1995; Agrios, 2005). Neste trabalho, o cv. Uirapuru não resistiu a agressão do patógeno confirmando sua suscetibilidade à raça 73, descrita por Loffaguen *et al.* (2005) e Paulert (2005).

O cv. Mouro Graúdo, em avaliação no estágio V4, foi tão suscetível quanto o cv. Uirapuru, um genótipo altamente suscetível à antracnose. Segundo Medeiros (2004), o cv. Mouro Graúdo é suscetível em estágio V1/V2, moderadamente resistente em V4/R5 e resistente em R5/R6 para diferentes raças de *C. lindemuthianum*. Este aumento gradativo da resistência com a idade da planta tem sido denominado “resistência de planta adulta”. Embora resistência de planta adulta seja bem conhecida e estudada em cereais (Liang *et al.*, 2006) como por exemplo, em trigo (*Triticum aestivum*) cv. Toropi que possui resistência estritamente de planta adulta contra ferrugem da folha (*Puccinia triticina* Erikss) (Barcellos *et al.*, 2000), poucos estudos são disponíveis para o patossistema feijoeiro/*C. lindemuthianum*. Na verdade, nenhuma das variáveis analisadas neste trabalho, exibiu qualquer diferença entre os cvs. Uirapuru e Mouro Graúdo. Possivelmente, porque a expressão de genes de resistência só ocorre no estágio reprodutivo. Costa *et al.* (2006) pesquisando a resistência em cultivares de soja ao *C. truncatum* observaram um aumento de resistência das plantas, em estádios mais tardios do ciclo de desenvolvimento. De acordo com os resultados desta pesquisa, o cv. Mouro Graúdo, que segundo Medeiros (2004) apresenta resistência de planta adulta, não expressou os genes para este tipo de resistência no estágio fenológico V4.

A aplicação do polissacarídeo ulvana (10mg/mL) reduziu aos 14 dai, em 52 e 53% o aumento do número e do tamanho do comprimento de lesões nas nervuras dos folíolos laterais, diretamente tratados (Anexos 2 e 10). Paulert (2005), também observou aos 7 e 14 dai redução na severidade de antracnose em feijoeiro quando tratou com ulvana (10mg/mL) quatro dias antes da inoculação com *C. lindemuthianum*, em comparação às testemunhas. Considerando que a ulvana não tem efeito direto sobre o fungo (Paulert, 2005, Abreu, 2005, Cluzet *et al.*, 2004), os resultados sugerem que a ulvana tenha estimulado respostas locais de defesa em feijoeiro, isto é, deve ter induzido resistência.

Segundo Stadnik & Maraschin (2004), a resistência induzida do hospedeiro a fitopatógenos pode ser entendida como a capacidade da planta em evitar e/ou atrasar o desenvolvimento do patógeno após sua penetração, podendo se manifestar como uma redução no número e tamanho das lesões. Como houve redução na taxa de desenvolvimento das lesões nas nervuras dos cultivares estudados, é de supor que o tratamento com o polissacarídeo algal tenha ativado os mecanismos de defesa do feijoeiro de forma a inibir o desenvolvimento do patógeno. Quando as respostas de defesa são mais rápidas que o processo de infecção, a planta pode conter o desenvolvimento do patógeno (Bonaldo *et al.*, 2005).

Neste trabalho, a aplicação preventiva da ulvana reduziu o desenvolvimento das lesões de forma diferenciada nas nervuras dos folíolos dos cultivares. Assim, a nervura primária teve mais e maiores lesões por centímetro de nervura do que as outras. A nervura terciária foi a que apresentou menos lesões. Embora lesões entre as nervuras possam ser observáveis, a antracnose do feijoeiro ocorre preferencialmente nas nervuras foliares (Jerba *et al.*, 2005). A nervura primária desempenha um papel essencial para a sobrevivência da folha, pois é por ela que são transportados os nutrientes e água que irão suprir as necessidades das demais células do limbo foliar (Raven *et al.*, 2001). É importante destacar que, com a morte desta nervura, haverá inevitavelmente a morte dos folíolos. Quando o fungo atinge essas nervuras, promove a desestruturação da lamela média e, conseqüentemente, ocorre o colapso do sistema de feixes vasculares, reduzindo a translocação de fotoassimilados (Kimati, 1997). A severidade de antracnose, medida tanto pelo número como pelo tamanho de lesões, foi sempre maior na nervura primária (Figuras 3 e 6).

No folíolo central dos cultivares Uirapuru e Mouro Graúdo, verificou-se o efeito sistêmico da ulvana. Este polissacarídeo reduziu tanto a velocidade de formação como o crescimento das lesões. A ulvana manteve inalterado o número de lesões na nervura secundária no período avaliado (Figura 4), e a velocidade de aumento do tamanho do comprimento das lesões foi reduzido em 58 e 72% na nervura secundária do folíolo central, dos cvs. Uirapuru e Mouro Graúdo, respectivamente (Figura 7). É importante destacar que o folíolo central foi protegido com saco plástico durante o tratamento. Tal fato comprova o efeito sistêmico da ulvana. As plantas, após exposição a um agente indutor, têm seus mecanismos de defesa ativados não apenas no sítio de indução, como também em outros locais distantes dele, de forma mais ou menos generalizada (SAR) (Sticher *et al.*, 1997). Os extratos de *U. fasciata* e *Lemna* sp., em testes comparativos, reduziram aos 5

dai, de forma sistêmica (em trifólio não tratado) a severidade de antracnose no cv. Uirapuru, na ordem de 55 e 44%, respectivamente, em relação à testemunha (Abreu, 2005). A ação sistêmica de extrato de alga verde *U. fasciata* em plantas de feijoeiro contra a antracnose, encontrada no trabalho de Abreu (2005), também foi observada em condições de campo por Loffaguen *et al.* (2004). É importante destacar a expressão genética diferencial que ocorreu na nervura secundária do folíolo central dos cultivares em estudo, com a aplicação da ulvana, pois, não houve diferença no desenvolvimento do número de lesões, entre os tratamentos nas demais nervuras. Contudo, mais estudos precisam ser realizados para elucidar e confirmar a expressão diferencial da indução na resistência sistêmica.

A ulvana diminuiu a germinação de conídios sobre os folíolos dos cvs. Uirapuru e Mouro Graúdo, 48 hai (Figura 9A). As seguintes características da ulvana podem ser levantadas para tentar explicar a redução na germinação observada neste trabalho: (1) a ulvana é um polissacarídeo com capacidade para formar quelatos na presença de íons boro e cálcio (Chiovitti *et al.*, 2001). Com a formação de géis pode haver o seqüestro de cátions que são essenciais para a germinação de conídios de *Colletotrichum*, como por exemplo o cálcio (Ahn *et al.*, 2003); (2) a ulvana pode fornecer nutrientes aos microrganismos que estão no filoplano que poderiam, por sua vez, produzir metabólitos antimicrobianos como ocorreu, por exemplo, a produção de substâncias inibidoras ao *C. acutatum*, produzidas por diversos isolados de *Bacillus* spp. em frutos cítricos (Kupper *et al.*, 2003). Em contraste, estudos prévios realizados têm demonstrado claramente que este polissacarídeo não possui, *in vitro*, atividade direta (fungicida) contra *Colletotrichum* spp (Cluzet *et al.*, 2004; Talamini, 2004), embora extratos alcólicos da mesma alga possam apresentar ação antimicrobiana (Paulert, 2005).

Curiosamente, a maior formação de apressórios (42% dos conídios germinados) ocorreu nos folíolos do cultivar resistente (Valente), que diferiu significativamente daquela observada no cv. Mouro Graúdo (Figura 9B). O cv. Valente não apresentou lesões necróticas (reação resistente), o que indica que o patógeno não infectou o tecido foliar da planta e/ou não se desenvolveu nele. De fato, trabalhos citológicos de resistência de plantas (Silva e Bisognin, 2004) a diferentes patógenos têm demonstrado que genes maiores não influenciam na formação de apressório. Assim, o patógeno é capaz de germinar e formar o apressório tão bem em cultivares resistentes quanto em suscetíveis. Após a sua deposição na superfície da folha, o conídio de *Colletotrichum lindemuthianum* germina formando um tubo germinativo relativamente curto e em sua extremidade forma um apressório



melanizado (Bailey *et al.*, 1992; Wharton & Diégues-Uribeondo, 2004). A penetração ocorre através de uma hifa de infecção que emerge da base do apressório e penetra diretamente a cutícula e a parede celular da planta. Na extremidade da hifa de penetração, origina-se a hifa intracelular formada por uma estrutura globosa, a vesícula de infecção e a partir desta, uma hifa primária. A hifa intracelular é circundada por uma matriz interfacial separando-a da membrana plasmática do vegetal que invagina-se ao redor desta estrutura. Esta fase é caracterizada como biotrófica (O'Connell *et al.*, 1995; Mendgen *et al.*, 2002).

A colonização dos tecidos inicia-se ao final da fase biotrófica, isto é, aproximadamente, 48 horas após a penetração do patógeno. Na fase necrotrófica, desenvolve-se uma hifa secundária que destrói rapidamente o citoplasma e degrada as paredes celulares de células do hospedeiro e das vizinhas ao redor da infecção (O'Connell *et al.*, 1995; Wharton & Julian, 1996; Wharton *et al.*, 2001), o que caracteriza o fungo *C. lindemuthianum*, como parasita hemibiotrófico (Bailey *et al.*, 1992; O'Connell *et al.*, 1995). Nesta fase são observados os sintomas típicos da doença. Como observado neste trabalho e na descrição dos sintomas da antracnose na literatura (Bailey *et al.*, 1992, Medeiros, 2004), *C. lindemuthianum* infecta preferencialmente as nervuras. A rara ocorrência de lesões entre as nervuras indica que estas células sejam geralmente resistentes à penetração e/ou desenvolvimento do patógeno. Isto explicaria, em parte, porque a frequência de células hipersensitivas neste tecido foi tão elevada, visto que a reação de hipersensibilidade é uma resposta de defesa altamente eficiente para patógenos biotróficos e hemibiotróficos (Watanabe & Lam, 2006). Todos os cultivares exibiram um número elevado de lesões nas nervuras. No entanto, as reações de hipersensibilidade foram observadas a 48 hai, justamente no momento de transição entre a fase biotrófica e necrotrófica do fungo, quando o número de células necrosadas aumentaria naturalmente. Porém, o número de células hipersensitivas foi semelhante entre o cv. Valente (resistente, sem lesões) e os cultivares suscetíveis.

Por fim, pode-se concluir que ulvana reduziu local e sistemicamente a taxa de desenvolvimento tanto do número como do comprimento de lesões aos 14 dai em ambos os cultivares suscetíveis. A nervura primária foi mais suscetível à antracnose do que as outras. Os conídios germinaram igualmente nos cultivares, mas a ulvana reduziu sua germinação em 28 e 44% nos cvs. Uirapuru e Mouro Graúdo, respectivamente. A maior formação de apressórios (42%) foi registrada no 'Valente' que diferiu significativamente daquela sobre os folíolos do 'Mouro Graúdo'. A ulvana não influenciou a formação de apressórios. A frequência de células hipersensitivas foi semelhante entre os cultivares, mas

significativamente maior em 'Uirapuru' tratado com ulvana que em plantas testemunhas de 'Mouro Graúdo'.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, G.F. de. **Bioprospecção de macroalgas marinhas e plantas aquáticas para o controle da antracnose (*Colletotrichum Lindemuthianum*) do feijoeiro (*Phaseolus Vulgaris* L.)**. Florianópolis, 2005. 80 f. Dissertação (Mestrado em Ciências – Área de Concentração: Recursos Genéticos Vegetais) – Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, Universidade Federal de Santa Catarina.

ABREU, G.F. de; TALAMINI, Viviane; STADNIK, M. J. Bioprospecção de macroalgas marinhas e plantas aquáticas para o controle da antracnose do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, 2007 (no prelo).

AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 5. ed. San Diego: Elsevier Academic Press, 2005. 922p.

AHN, I-P.; KIM, S.; CHOI, W-B.; LEE, Y-H. Calcium restores prepenetration morphogenesis abolished by polyamines in *Colletotrichum gloeosporioides* infecting red pepper. **FEMS Microbiology Letters**, v. 227, n. 2, p. 237-241, 2003.

ALVES, M. C.; POZZA, E. A.; MACHADO, J. C.; ARAÚJO, D. V.; TALAMINI, V.; OLIVEIRA, M. S. Geoestatística como metodologia para estudar a dinâmica espaço-temporal de doenças associadas a *Colletotrichum* spp. transmitidos por sementes. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 6, p. 557-563, 2006.

ALZATE-MARIN, A. L.; SARTORATO, A. Analysis of the pathogenic variability of *Colletotrichum lindemuthianum* in Brazil. **Annual Report of the Bean Improvement**, Fort Collins, v. 47, p. 241-242, 2004.

ATHAYDE SOBRINHO, C.; FERREIRA, P. T. O.; CAVALCANTI, L. S. Indutores abióticos. In: Cavalcanti, L.S.; Di Piero, R.M.; Cia, P.; Pascholati, S.F.; Resende, M.L.V.; Romeiro, R.S.. (Org.). **Indução de resistência a patógenos e insetos**. 1 ed. Piracicaba: FEALQ, 2005. v. 1, p. 51-80.

BAILEY, J. A.; O'CONNELL, R. J.; PRING, R. J.; NASH, C. Infection strategies of *Colletotrichum* species. In: BAILEY, J. A.; JEGER, M. J. (Eds.) **Colletotrichum: Biology, Pathology and Control**. Wallingford: C.A.B. International, 1992. p. 88-120.

BALARDIN, R. **Fundamentos da resistência em plantas**. Disponível em: <[http://www.balardin.com/adm/arquivos/5\\_fundderesistencia.pdf](http://www.balardin.com/adm/arquivos/5_fundderesistencia.pdf)> Acesso em 2007.

BARBIERI, R.L.; CARVALHO, F.I.F. Coevolução de plantas e fungos patogênicos. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 7, p. 79-161, 2001.

BARCELLOS, A. L.; ROELFS, A. P.; MORAES-FERNANDES, M. I. B. de. Inheritance of adult plant leaf rust resistance in the Brazilian wheat cultivar Toropi. **Plant Disease**, v. 84, n. 1, p. 90-93, 2000.

BENINCASA, M.M.P. **Análise de crescimento de plantas: noções básicas**. Jaboticabal: Funep, 1988. 42p.

BIANCHINI, A.; MARINGONI, A. C.; CARNEIRO, S. M. T. P. G. Doenças do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.). **Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v. 2, p. 376 - 399.

BIANCO, S.; PITELLI, R. A.; PITELLI, A. M. C. M. Estimativa da Área Foliar de *Typha latifolia* Usando Dimensões Lineares do Limbo Foliar. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 21, n. 2, p. 257-261, 2003.

BONALDO, S. M.; PASCHOLATI, S.F.; ROMEIRO, R.S. Indução de resistência: noções básicas e perspectivas. In: Cavalcanti, L.S.; Di Piero, R.M.; Cia, P.; Pascholati, S.F.; Resende, M.L.V.; Romeiro, R. S. (Org.). **Indução de resistência a patógenos e insetos**. 1 ed. Piracicaba: FEALQ, 2005. v. 1, p. 11-28.

CHAVES, G. M. La antracnosis. In: SCHWARTZ, H.; GALVEZ, G. E. **Problemas de Producción del frijol**. Cali: CIAT, 1980. p. 37-53.

CHIOVITTI, A.; KRAFT, G. T.; BACIC, A.; LIAO, M-L. Gelling polysaccharides from Australian seaweeds: research and potential. **Marine and Freshwater Research** v. 52, p. 917-935, 2001.

CLUZET S.; TORREGROSA C.; JACQUET C.; LAFITTE C.; FOURNIER J.; MERCIER L.; SALAMAGNE S.; BRIAND X.; ESQUERRÉ-TUGAYÉ M.-T.; DUMAS B. Gene expression profiling and protection of *Medicago truncatula* against a fungal infection in response to an elicitor from green algae *Ulva* spp. **Plant, Cell and Environment**, Great Britain, v. 27, n. 7, p. 917–928, 2004.

COLSON, E.; DEVERALL, B. Helping plants fight their own disease battles. **Australian Cottongrower**, v. 17, n. 5, p. 76-80, 1996.

COSTA, I.F.D. da; BALARDIN, R. S.; MEDEIROS, L. A. BAYER, T. M. Resistência de seis cultivares de soja ao *Colletotrichum truncatum* (Schwein) em dois estádios fenológicos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 6, p. 1684-1688, 2006.

COWAN, M. M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, n. 4, p. 564-582, 1999.

DHINGRA, O. D.; SINCLAIR, J. B. **Basic Plant Pathology Methods**. 2 ed. Boca Raton: CRC Press, 1995. 448 p.

DOURADO NETO, D.; FANCELLI, A. L. **Produção de feijão**. Guaíba: Agropecuária, 2000. 385 p.

EMBRAPA. **Agência de Informação Embrapa – Feijão**. Disponível em: <[www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia4/AG01/Abertura.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia4/AG01/Abertura.html)>. Acesso em: 31 outubro 2006.

EMBRAPA TRIGO. **Feijão BRS Valente**. Disponível em: <[http://www.cnpt.embrapa.br/culturas/feijao/cultivares/c\\_fevalente.htm](http://www.cnpt.embrapa.br/culturas/feijao/cultivares/c_fevalente.htm)>. Acesso em: 31 outubro 2006.

EMBRAPA. **Cultivar BRS Valente**. Disponível em: <[www.cnpt.embrapa.br/c\\_fevalente.htm](http://www.cnpt.embrapa.br/c_fevalente.htm)>. Acesso em: 2007.

FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. **Ecofisiologia e fenologia do feijoeiro: Tecnologia da produção de Feijão irrigado**. Piracicaba: ESALQ/USP, Departamento de Agricultura, 1997. 182 p.

FLOR, H. H. Host-parasite interaction in flax rust – its genetics and other implications. **Phytopathology**, v. 45, p. 680-685, 1955.

FONSECA, C.E.L.; CONDÉ, R.C.C. Estimativa da área foliar em mudas de Mangabeira (*Hancornia speciosa* Gom.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 4, p. 593-599, 1994.

GHAOUTH, A. E.; WILSON, C. L.; CALLAHAN, A. M. Induction of chitinase,  $\beta$ -1,3-glucanase, and fenilalanine ammonia lyase in peach fruit by UV-C treatment. **Phytopathology**, v. 93, n. 1, p. 349-355, 2003.

GILBERTSON, R. L.; MAXWELL, D. P. Common blight of bean. In: CHAUBE, H. S.; SINGH, U. S.; MUKHOPADHYAY, A. N. (Eds.) **Plant diseases of international importance**. Prentice Hall: Englewood Cliffs, v. 2, 1992, p. 18-39.

HAHN, M. G. Microbial elicitors and their receptors in plants. **Annual Review of Phytopathology**, v. 34, n. 3, p. 387-412, 1996.

IAPAR. **Principais Características das Cultivares de Feijão com Sementes Disponíveis no Mercado**. Disponível em: <[http://www.iapar.br/zip\\_pdf/fcultfeijao.pdf](http://www.iapar.br/zip_pdf/fcultfeijao.pdf)>. Acesso em: 17 junho 2007.

IBGE. **Área plantada, área colhida, quantidade, rendimento médio e valor da produção de cereais, leguminosas e oleaginosas**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 14 dez 2005.

IBGE. **Levantamento da produção de feijão safra 2004/05**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>> Acesso em: 14 dez 2005.

IRITI M., FAORO F.: Benzothiadiazole (BTH) induces cell-death independent resistance in *Phaseolus vulgaris* against *Uromyces appendiculatus*. **Journal Phytopathology**, v. 151 p. 171-180, 2003.

JERBA, V. de F.; RODELLA, R. A.; FURTADO, E. L. Relação entre a estrutura foliar de feijoeiro e a pré-infecção por *Glomerella cingulata* f.sp. *phaseoli*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 3, p. 217-223, 2005.

JOLY, A. B. Flora marinha do litoral norte do estado de São Paulo e regiões circunvizinhas. **Separata do Boletim 294 – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da USP**, São Paulo, v. 21, p. 31-33, 1965.

KLARZYNSKI, O.; PLESSE, B.; JOUBERT, J. M.; YVIN, J. C.; KOPP, M.; KLOAREG, B.; FRITIG, B. Linear beta-1,3 glucans are elicitors of defense responses in tobacco. **Plant Physiology**, Rockville, v. 124, n. 3, p. 1027-1038, 2000.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. (Eds.) **Manual de fitopatologia**: doenças das plantas cultivadas. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v.2, 774p.

KUPPER, K. C.; GIMENES-FERNANDES, N.; GOES, A. de. Controle biológico de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da queda prematura dos frutos cítricos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.28, n. 3, 2003.

LEONETTI, D. B.; GONZAGA, F.; HORTA, P. A.; STADNIK, M. J. Eficiência de extratos de macroalgas marinhas no controle de bactérias fitopatogênicas e do oídio do feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28 (suplemento), p. s380-S380, 2003.

LIANG, S. S.; SUENAGA, K.; HE Z. H.; WANG Z. L.; LIU, H. Y.; WANG, D. S.; SINGH, R. P.; SOURDILLE, P.; XIA, X. C. Quantitative Trait Loci Mapping for Adult-Plant Resistance to Powdery Mildew in Bread Wheat. **Phytopathology**, v. 96, n. 7, p. 784-789, 2006.

LYON, G. D.; REDLINSKI, T.; NEWTON, A. C. Novel disease control compounds: the potential to “immunize” plants against infection. **Plant Pathology**, v. 44, n. 1, p. 407-427, 1995.

LOFFAGUEN, J. C. **Produção de sementes e avaliação de extratos naturais no controle de doenças do feijoeiro em Santa Catarina**. Florianópolis, 2004. 58 f. Monografia (Graduação em Agronomia) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina.

LOFFAGUEN, J. C.; HARTMANN, O. E. L.; TALAMINI, V.; STADNIK, M. J. Extratos naturais no controle da antracnose e na produtividade do feijoeiro. In: Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 2004, **Fitopatologia Brasileira**, Brasília v. 29 (suplemento), p. 107-107, 2004.

LOFFAGUEN, J. C.; TALAMINI, V.; STADNIK, M. J. Identificação da raça 73 de *Colletotrichum lindemuthianum*, agente causal da antracnose-do-feijoeiro, em dois municípios do Alto Vale do Itajaí, SC. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 18, n. 2, p. 87-89, 2005.

MEDEIROS, L. A. M. **Resistência genética do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) ao *Colletotrichum lindemuthianum***. Santa Maria, 2004. 84 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Santa Maria.

MENDGEN, K.; HAHN, M. Plant infection and the establishment of fungal biotrophy. **Trends in Plant Science**, London, v. 7, n. 8, p. 352-356, 2002.

METRAUX J-P. Systemic acquired resistance and salicylic acid: Current state of knowledge. **European Journal of Plant Pathology**, Springer Netherlands, v. 107, p. 13-18, 2001.

MOURA, P. A. M.; PAIVA, B. M.; RESENDE, L. M. A. Aspectos econômicos da cultura do feijão. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 17, n. 178, p. 67-72, 1994.

NANDAKUMAR, R.; BABU, S. VISWANATHAN, R.; RAGUCHANDER, T.; SAMIYAPPAN R. Induction of systemic resistance in rice against sheath blight disease by *Pseudomonas fluorescens*. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 33, n. 4, p. 603-612, 2001.

O'CONNELL, R. J.; PAIN, N. A.; HUTCHISON, K. A.; JONES, G. L.; GREEN, J. R. Ultrastructure and composition of the cell surfaces of infection structures formed by the fungal plant pathogen *Colletotrichum lindemuthianum*. **Journal of Microscopy**, v. 181, n. 2, p. 204-212, 1995.

OLIVEIRA, J. P. de; BARRETO, C. A. P. Métodos para determinação da área foliar do feijoeiro caupi, *vigna sinensis* (L) Savi cultivado em casa de vegetação. **Ciê. Agron.**, Fortaleza-Ceará, v. 10, n. 1, p. 49-52, 1980.

OLIVEIRA, M. N. S.; LOPES, P. S. N.; MERCADANTE, M. O.; OLIVEIRA, G. L.; GUSMÃO, E. Medição da área foliar do pequizeiro utilizando a soma da nervura principal dos folíolos. **Revista Unimontes Científica**, Montes Claros, v. 3, n. 3, p. 39-43, 2002.

OGA, F.; FONSECA, C. Um método rápido para estimar área foliar em mudas de cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 4, p. 571-577, 1994.

PASTOR-CORRALES, M. A. Enfermedades del frijol causadas por hongos. In: LÓPEZ, M.; FERNÁNDEZ, F.; SCHOONHOVEN, A. (Eds.). **Frijol: investigación y producción**. Cali: PNUD-CIAT, 1985. p. 172-180.

PASTOR-CORRALES, M. A. Estandarización de variedades diferenciales y designación de razas de *Colletotrichum lindemuthianum*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 81 p. 694, 1991

PARLEVLIET, J.E. Components of resistance that reduce the rate of epidemic development. **Annual Review of Phytopathology**. Palo Alto, v.17, p. 203-222, 1979.

PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Org.). **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. 3 ed. São Paulo, SP: Editora Agronômica Ceres Ltda, 1995. v. 1, p. 417-453.

PAULA-JR, T. J.; ZAMBOLIM, L. Doenças. In: VIEIRA, C.; PAULA-JR, T. J.; BORÉM, A. (Eds.). **Feijão: aspectos gerais e cultura no estado de Minas Gerais**. Viçosa: Editora UFV, 1998. p. 375-433.

PAULERT, R. **Atividade antimicrobiana e controle da antracnose do feijoeiro comum (*phaseolus vulgaris* L.) utilizando polissacarídeo e extratos da macroalga marinha *ulva fasciata***. Florianópolis, 2005. 107 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de Santa Catarina.

PAULERT, R.; SMÂNIA JÚNIOR, A.; STADNIK, M. J.; PIZZOLATTI, M. Antimicrobial properties of extracts from the green seaweed *Ulva fasciata* Delile against pathogenic bacteria and fungi. **Algological Studies**, Stuttgart, p. 123-130, 2007.

PELOSO, M. J. Antracnose do feijoeiro no Estado de Minas Gerais-Brasil. In: PASTOR-CORRALES, M. A. (Ed.). **La antracnosis del frijol común, *Phaseolus vulgaris*, en América Latina**. Cali, Colômbia: CIAT, 1992. p. 244-251 (Doc. De Trabajo n. 113.).

POSER, G. L.; MENTZ, L. A. Diversidade biológica e sistemas de classificação. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Eds.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS, 2000. p. 63-76

QUEIROGA, J. L.; ROMANO, E. D. U.; SOUZA, J. R. P.; MIGLIORANZA, E. Estimativa da área foliar do feijão-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) por meio da largura máxima do folíolo central. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 1, p. 64-68, 2003.

RAVA, C.A.; MOLINA, J.; KAUFFMANN, M.; BRIONES, I. Determinación de razas fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* en Nicaragua. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 18, n. 3, p.388-391, 1993.

RAVA, C. A.; SARTORATO, A. Antracnose. In: SARTORATO, A.; RAVA, C. A. (Org.). **Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle**. 1. ed. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. v. 1, p. 17-39.

RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. **Biologia vegetal**. 6. ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2001. 906p.

ROBINSON, R. A. **Plant Pathosystems**. New York: Springer-Verlag, 1976. 184 p.

SAETTLER, A. W. Common Bacterial Blight. In: HALL, R. (Ed.) 2. ed. **Compendium of bean disease**. St. Paul: APS Press, 1991, p. 29-30.

SARTORATO, A.; RAVA, C. A.; RIOS, G. P. Doenças fúngicas e bacterianas da parte aérea. In: ARAÚJO, R. S.; RAVA, C. A.; STONE, L. F.; ZIMMERMANN, M. J. O. (Eds.) **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: Potafos, 1996. p. 669-700.

SARTORATO, A. Determinação da variabilidade patogênica do fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (sac.) Scrib. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 2002, Viçosa. **Anais...** Viçosa, UFV, 2002. p. 114-116.

SARTORATO, A. Avaliação da cultivar BRS Valente a vários patótipos de *Colletotrichum lindemuthianum*. In: Congresso brasileiro de melhoramento de plantas, 2003, Porto Seguro, BA. **Anais do Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas**. Londrina : Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas, 2003. v. 1. p. T486.



SARTORATO, A. **Principais doenças do feijoeiro comum**. Disponível em: <[http://www.agromil.com.br/doe\\_feij.html](http://www.agromil.com.br/doe_feij.html)>. Acesso em: 14 dez 2005.

SARTORATO, A. **Desafios no controle de doenças na cultura do feijoeiro na região Centro-Oeste**. Disponível em: <<http://www.infobibos.com/artigos/2006-3/D3/index.htm>>. Acesso em: 9 dezembro 2006.

SCHWARTZ, H. F. Antracnose. In: HALL, R. (Ed.). **Compendium of Bean Diseases**. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1991. p. 16-17.

SEVERINO, L. S.; CARDOSO, G. D.; VALE, L. S.; SANTOS, J. W. Método para determinação da área foliar da mamoneira. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, Campina Grande - PB, v. 8, n. 1, p. 753-762, 2004.

SILVA, A. L. L. da; BISOGNIN, D. A. Resistência a doenças em *solanum tuberosum* L. – solanaceae: artigo de revisão. **Caderno de Pesquisa Série Biologia**, Santa Cruz do Sul, v. 16, n. 2, p. 117-129, 2004.

SILVA, M. G. de M. **Seleção de famílias superiores de feijoeiro com resistência a antracnose e mancha angular**. Lavras, 2005. 80f. Dissertação (Mestrado em genética e melhoramento de plantas) - Programa de pós-graduação em agronomia, Universidade Federal de Lavras.

SPERS, E. E.; NASSAR, A. M. Competitividade do sistema agroindustrial do feijão. In: FARINA, E. M. M. Q.; ZYLBERSZTAJN, D. (coords.). **Competitividade do agrobusiness brasileiro**. São Paulo: PENSA, 1997, p. 102-250.

STADNIK, M. J. . Indução de Resistência a Oídios. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 175-177, 2000.

STADNIK, M. J.; BUCHENAUER, H. Inhibition of phenylalanine ammonia-lyase suppresses the resistance induced by benzothiadiazole in wheat to *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, USA, v. 57, n. 1, p. 25-34, 2000.

STADNIK, M. J. Uso potencial de algas no controle de doenças de plantas. In: REUNIÃO DE CONTROLE BIOLÓGICO DE FITOPATÓGENOS, 8. **Anais...** Ilhéus: Cepec, 2003. p. 70-74.

STADNIK, M. J.; MARASCHIN, M. Indução de resistência de plantas a fitopatógenos. In: STADNIK, M. J.; TALAMINI, V. (Eds.). **Manejo ecológico de doenças de plantas**. Florianópolis: CCA/UFSC, 2004, p. 221-244.

STICHER, L.; MAUCH MANI, B.; METRAUX, J. P. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 35, n. 1, p. 235-270, 1997.

SUTTON, B. C. The Genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. In: BAILEY, J. A.; JEGER, M. J. (Eds.) **Colletotrichum: Biology, pathology and control**. Wallingford: C.A.B. International, 1992, p. 1-16.

TALAMINI, V; STADNIK, M. J. Extratos vegetais e de algas no controle de doenças de plantas. In: TALAMINI, V; STADNIK, M. J. (Eds.). **Manejo ecológico de doenças de plantas**. Florianópolis: CCA/UFSC, 2004, p 45-62.

TAMAYO, P. J. **Manejo y control de las enfermedades del frijol voluble**. Rio Negro: Editora Piloto, 1995. 40 p.

TANAKA, M. A. S. Técnicas Auxiliares em Laboratório de Patologia de Sementes. In: SOAVE, J.; WETZEL, M. M. V. S. (Orgs.). **Patologia de Sementes**. 1 ed. Campinas: Fundação Cargill, 1987, p. 313-328.

TU, J. C. *Colletotrichum lindemuthianum* on bean: Population dynamics of the pathogen and breeding for resistance. In: BAILEY, J. A.; JEGGER, M. J. C.A.B. **Colletotrichum: Biology, pathology and control**. Wallingford: C.A.B. International, 1992, p. 203-224.

VALE, F. X. R. do; COSTA, H.; ZAMBOLIM, L. Doenças da parte aérea causadas por fungos. In: VALE, F. X. R. do; ZAMBOLIM, L. (Eds.). **Controle de Doenças de Plantas: grandes culturas**. Viçosa: UFV; Brasília: Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 1997, p. 335-341.

VAN DER PLANK, J.E. **Disease resistance in plant**. New York: Academic Press, 1968. 206 p.

VIEIRA, C.; BORÉM, A.; RAMALHO, M. A. P. Melhoramento do feijão. In: BORÉM, A. **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: Editora UFV, 1999, p. 273-349.

WHARTON, P. S.; JULIAN, A. M. A cytological study of compatible and incompatible interactions between *Sorghum bicolor* and *Colletotrichum sublineolum*. **New Phytologist**, v. 134, n. 1, p. 25-34, 1996.

WHARTON, P. S.; JULIAN, A. M.; O'CONNELL, R. J. Ultrastructure of the infection of *Sorghum bicolor* by *Colletotrichum sublineolum*. **Phytopathology**, v. 91, n. 2, p. 149-158. 2001.

WHARTON, P. S.; DIÉGUEZ-URIBEONDO, J. The biology of *Colletotrichum acutatum*. **Anales del Jardín Botánico de Madrid**, v. 61, n. 1, p. 3-22, 2004.

WATANABE, N.; LAM, E. The hypersensitive response in plant disease resistance. In: TUZUN, S.; BENT, E. (Eds.) **Multigenic and induced systemic resistance in plants**. Springer, 2006, p. 83-111.

WULFF, N. A.; PASCHOLATI, S. F. Partial characterization of sorghum phytoalexin elicitors isolated from *Saccharomyces cerevisiae*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 3, p. 428-435, 1999.

## **ANEXOS**

**Anexo 1.** Análise de variância das notas atribuídas ao segundo trifólio dos cultivares Uirapuru e Mouro Graúdo, pela escala de avaliação para antracnose do feijoeiro proposta por Tamayo (1995), 9 dai, no estágio fenológico V4.

<b>Segundo Trifólio</b>				
Fonte	GL	QM	F	P>F
Cultivar	1	0,0181	0,01	0,9164
Tratamento	1	0,4648	0,29	0,5967
Cultivar * Trat.	1	0,9048	0,56	0,4618
Erro	20	1,6073		

Trat. = tratamento; GL = Graus de liberdade; QM = Quadrado médio; F = teste F; P>F = probabilidade do teste F.

**Anexo 2.** Número de lesões necróticas de antracnose, nas nervuras primária, secundária, terciária e na soma de todas as nervuras, em folíolos laterais (efeito local) de cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), Uirapuru (acima) e Mouro Graúdo (abaixo), previamente tratados com ulvana (10mg/mL), 6 e 3 dias antes da inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*, avaliada aos 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4.

Uirapuru*								
Nervuras	8 dias		10 dias		12 dias		14 dias	
	água	Ulvana	água	Ulvana	água	Ulvana	água	Ulvana
<b>primária</b>	0,12	0,10	0,14	0,13	0,17	0,15	0,23	0,16
<b>secundária</b>	0,07	0,05	0,09	0,06	0,11	0,07	0,14	0,08
<b>terciária</b>	0,01	0,01	0,02	0,01	0,03	0,02	0,05	0,02
<b>total</b>	0,20	0,16	0,25	0,20	0,32	0,24	0,41	0,26

Mouro Graúdo*								
Nervuras	8 dias		10 dias		12 dias		14 dias	
	água	Ulvana	água	Ulvana	água	Ulvana	água	Ulvana
<b>primária</b>	0,20	0,23	0,23	0,23	0,27	0,26	0,33	0,29
<b>secundária</b>	0,06	0,03	0,06	0,04	0,08	0,05	0,12	0,06
<b>terciária</b>	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02	0,04	0,03
<b>total</b>	0,27	0,27	0,30	0,28	0,37	0,33	0,49	0,38

\* Média de seis repetições (4 folíolos por repetição). Lesões por centímetro de nervura.

**Anexo 3.** ANOVA de dados de pré-tratamentos com ulvana (10mg/mL), 6 e 3 dias antes da inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*, em folíolos laterais (efeito local) de cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), Uirapuru e Mouro Graúdo, sobre o desenvolvimento do número de lesões necróticas de antracnose, nas nervuras primária, secundária, terciária e no comprimento total destas nervuras, avaliado aos 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4.

Nervura Primária				
F de Cultivares	GL	QME	F	P>F
cultivar	1	0,2702	7,84	<b>0,0111</b>
tratamento	1	0,0077	0,22	0,6412
cultivar/tratamento	1	0,0029	0,09	0,7729
tempo	3	0,0347	23,88	<b>&lt;0,0001</b>
tempo/cultivar	3	0,0006	0,44	0,7225
tempo/ tratamento	3	0,0044	3,04	<b>0,0356</b>
tempo/cultivar/trat	3	0,0003	0,17	0,9150

Nervura Secundária				
F de Cultivares	GL	QME	F	P>F
cultivar	1	0,0107	1,94	0,1791
tratamento	1	0,0298	5,40	<b>0,0308</b>
cultivar/tratamento	1	0,0001	0,01	0,9358
tempo	3	0,0102	28,28	<b>&lt;0,0001</b>
tempo/cultivar	3	0,0001	0,20	0,8980
tempo/ tratamento	3	0,0013	3,73	<b>0,0158</b>
tempo/cultivar/trat	3	0,0001	0,23	0,8737

Nervura Terciária				
F de Cultivares	GL	QME	F	P>F
cultivar	1	0,0002	0,43	0,5186
tratamento	1	0,0008	1,41	0,2488
cultivar/tratamento	1	0,0008	1,41	0,2485
tempo	3	0,0034	45,57	<b>&lt;0,0001</b>
tempo/cultivar	3	0,0001	0,76	0,5196
tempo/ tratamento	3	0,0004	5,75	<b>0,0016</b>
tempo/cultivar/trat	3	0,0001	0,39	0,7582

Nervura Total				
F de Cultivares	GL	QME	F	P>F
cultivar	1	0,1525	2,48	0,1311
tratamento	1	0,0893	1,45	0,2423
cultivar/tratamento	1	0,0062	0,10	0,7546
tempo	3	0,1181	38,07	<b>&lt;0,0001</b>
tempo/cultivar	3	0,0020	0,63	0,5970
tempo/ tratamento	3	0,0154	4,96	<b>0,0038</b>
tempo/cultivar/trat	3	0,0001	0,05	0,9871

F = teste de F; GL = Graus de liberdade; QME = Quadrado médio do erro; F = valor do teste de F; P>F = probabilidade.

**Anexo 4.** ANOVA de modelos linear, quadrático e cúbico de regressão de dados de pré-tratamentos com ulvana (10mg/mL), 6 e 3 dias antes da inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*, em folíolos laterais (efeito local) de cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), Uirapuru e Mouro Graúdo, sobre o desenvolvimento do número de lesões necróticas de antracnose, nas nervuras primária, secundária, terciária e no comprimento total destas nervuras, avaliado aos 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4.

Variável	Trat.	Modelo	GL	SQ	QM	F	P>F
NP Ur	água	linear	1	0,0383	0,0383	9,79	0,0053
		quadrático	1	0,0011	0,0011	0,28	0,6057
		cúbico	1	0	0	0	0,9999
NP Ur	Ulvana	linear	1	0,0106	0,0106	1,88	0,1853
		quadrático	1	0,0005	0,0005	0,09	0,7732
		cúbico	1	0,0002	0,0002	0,04	0,8466
NP MG	água	linear	1	0,0536	0,0536	3,48	0,0769
		quadrático	1	0,0025	0,0025	0,16	0,6909
		cúbico	1	0	0	0	0,9839
NP MG	Ulvana	linear	1	0,0115	0,0115	0,82	0,3747
		quadrático	1	0,0015	0,0015	0,11	0,7444
		cúbico	1	0,0005	0,0005	0,04	0,8512
NS	água	linear	1	0,027	0,027	12,41	0,001
		quadrático	1	0,0014	0,0014	0,63	0,4301
		cúbico	1	0	0	0,02	0,8996
NS	Ulvana	linear	1	0,0061	0,0061	5,69	0,0214
		quadrático	1	0,0001	0,0001	0,14	0,7135
		cúbico	1	0	0	0	0,9769
NT	água	linear	1	0,0088	0,0088	46,86	0,0001
		quadrático	1	0,0005	0,0005	2,73	0,1055
		cúbico	1	0	0	0	0,9659
NT	Ulvana	linear	1	0,002	0,002	9,9	0,003
		quadrático	1	0,0001	0,0001	0,55	0,4615
		cúbico	1	0	0	0,02	0,8863
NTot	água	linear	1	0,3137	0,3137	17,07	0,0002
		quadrático	1	0,014	0,014	0,76	0,3872
		cúbico	1	0,0001	0,0001	0	0,9515
NTot	Ulvana	linear	1	0,0735	0,0735	4,33	0,0432
		quadrático	1	0,0012	0,0012	0,07	0,7906
		cúbico	1	0,0009	0,0009	0,05	0,8237

NP = nervura primária; NS = nervura secundária; NT = nervura terciária; NTot = nervura total; Ur = cultivar Uirapuru; MG = cultivar Mouro Graúdo; Trat. = tratamento; GL = grau de liberdade; SQ = soma de quadrados; QM = quadrado médio; F = valor de F; P>F probabilidade do teste F.

**Anexo 5.** Ajustes lineares para equações de retas de regressão das interações significativamente diferentes entre os cultivares de feijoeiro comum, Uirapuru e Mouro Graúdo, sobre o desenvolvimento do número de lesões necróticas de antracnose nos diferentes tipos de nervuras, dos folíolos laterais (efeito local) ao longo ao longo de 4 avaliações, 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4.

Variável	Trat.	P>F	R <sup>2</sup>	d.m.p	“a”	P>t	“b”	P>t
NP Ur	Água	<b>0,0138</b>	0,9727	0,009	-0,03353	0,2937	0,01786	<b>0,0138</b>
NP Ur	Ulvana	<b>0,0313</b>	0,9383	0,007	0,03074	0,2487	0,00938	<b>0,0313</b>
NP MG	Água	<b>0,0227</b>	0,9552	0,014	0,02546	0,5560	0,02114	<b>0,0227</b>
NP MG	Ulvana	0,0780	0,8501	0,012	0,14361	<b>0,0478</b>	0,00977	0,0780
NS	Água	-	-	-	0,0915	-	0	-
NS	Ulvana	-	-	-	0,0563	-	0	-
NT	Água	<b>0,0013</b>	0,8420	0,006	-0,04317	<b>0,0114</b>	0,00604	<b>0,0013</b>
NT	Ulvana	<b>0,0007</b>	0,8706	0,002	-0,01414	<b>0,0320</b>	0,00288	<b>0,0007</b>
NTot	Água	<b>0,0028</b>	0,7969	0,045	-0,06483	0,4524	0,03488	<b>0,0028</b>
NTot	Ulvana	-	-	-	0,2633	-	0	-

NP = nervura primária; NS = nervura secundária; NT = nervura terciária; NTot = nervura total; Ur = cultivar Uirapuru; MG = cultivar Mouro Graúdo; Trat. = tratamento; P>F probabilidade do teste F; R<sup>2</sup> = coeficiente de determinação; d.m.p = desvio médio padrão; “a” = intercepto; P>t = probabilidade de “a”; “b” = coeficiente angular; P>t = probabilidade de “b”.



**Anexo 6.** Número de lesões necróticas de antracnose, nas nervuras primária, secundária, terciária e no comprimento total destas nervuras, em folíolos centrais (efeito sistêmico) de cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), Uirapuru (acima) e Mouro Graúdo (abaixo), pré-tratados com ulvana (10mg/mL), 6 e 3 dias antes da inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*, avaliada aos 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4.

Uirapuru*								
	8 dias		10 dias		12 dias		14 dias	
	água	Ulvana	água	Ulvana	água	Ulvana	água	Ulvana
<b>primária</b>	0,19	0,15	0,28	0,17	0,34	0,21	0,37	0,21
<b>secundária</b>	0,07	0,08	0,10	0,08	0,13	0,09	0,16	0,11
<b>terciária</b>	0,02	0,01	0,03	0,01	0,04	0,02	0,06	0,02
<b>total</b>	0,28	0,24	0,41	0,27	0,52	0,32	0,59	0,35

Mouro Graúdo*								
	8 dias		10 dias		12 dias		14 dias	
	água	Ulvana	água	Ulvana	água	Ulvana	água	Ulvana
<b>primária</b>	0,27	0,25	0,28	0,27	0,38	0,28	0,38	0,34
<b>secundária</b>	0,05	0,06	0,06	0,07	0,08	0,07	0,13	0,08
<b>terciária</b>	0,01	0,02	0,01	0,02	0,03	0,03	0,06	0,04
<b>total</b>	0,33	0,33	0,35	0,37	0,49	0,38	0,57	0,46

\* Média de seis repetições (2 folíolos por repetição). Lesões por centímetro de nervura.

**Anexo 7.** ANOVA de dados de pré-tratamentos com ulvana (10mg/mL), 6 e 3 dias antes da inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*, em folíolos centrais (efeito sistêmico) de cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), Uirapuru e Mouro Graúdo, sobre o desenvolvimento do número de lesões necróticas de antracnose, nas nervuras primária, secundária, terciária e no comprimento total destas nervuras, avaliado aos 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4.

Nervura Primária				
F de Cultivares	GL	QME	F	P>F
cultivar	1	0,1109	1,03	0,3214
tratamento	1	0,1397	1,30	0,2676
cultivar/tratamento	1	0,0228	0,21	0,6495
tempo	3	0,0597	16,48	<b>&lt;0,0001</b>
tempo/cultivar	3	0,0014	0,40	0,7523
tempo/ tratamento	3	0,0090	2,48	0,0700
tempo/cultivar/trat	3	0,0035	0,95	0,4200

Nervura Secundária				
F de Cultivares	GL	QME	F	P>F
cultivar	1	0,0002	0,43	0,5186
tratamento	1	0,0008	1,41	0,2488
cultivar/tratamento	1	0,0008	1,41	0,2485
tempo	3	0,0034	45,57	<b>&lt;0,0001</b>
tempo/cultivar	3	0,0001	0,76	0,4244
tempo/ tratamento	3	0,0004	5,75	<b>0,0170</b>
tempo/cultivar/trat	3	0,0001	0,39	0,5916

Nervura Terciária				
F de Cultivares	GL	QME	F	P>F
cultivar	1	0,0011	0,31	0,5822
tratamento	1	0,0080	2,27	0,1479
cultivar/tratamento	1	0,0007	0,19	0,6676
tempo	3	0,0028	3,09	<b>0,0337</b>
tempo/cultivar	3	0,0008	0,91	0,4429
tempo/ tratamento	3	0,0009	0,97	0,4111
tempo/cultivar/trat	3	0,0016	1,73	0,1696

Nervura Total				
F de Cultivares	GL	QME	F	P>F
cultivar	1	0,0364	0,24	0,6271
tratamento	1	0,2699	1,81	0,1941
cultivar/tratamento	1	0,0592	0,40	0,5362
tempo	3	0,1775	26,06	<b>&lt;0,0001</b>
tempo/cultivar	3	0,0032	0,47	0,7045
tempo/ tratamento	3	0,0328	4,82	<b>0,0045</b>
tempo/cultivar/trat	3	0,0048	0,70	0,5539

F = teste de F; GL = Graus de liberdade; QME = Quadrado médio do erro; F = valor do teste de F; P>F = probabilidade.

**Anexo 8.** ANOVA de modelos linear, quadrático e cúbico de regressão de dados de pré-tratamentos com ulvana (10mg/mL), 6 e 3 dias antes da inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*, em folíolos centrais (efeito sistêmico) de cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), Uirapuru e Mouro Graúdo, sobre o desenvolvimento do número de lesões necróticas de antracnose, nas nervuras primária, secundária, terciária e no comprimento total destas nervuras, avaliado aos 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4.

Variável	Trat.	Modelo	GL	SQ	QM	F	P>F
NP	água	linear	1	0,1577	0,1577	3,58	0,0652
		quadrático	1	0,0038	0,0038	0,09	0,7692
		cúbico	1	0,006	0,006	0,14	0,7143
NP	Ulvana	linear	1	0,0383	0,0383	2,95	0,0931
		quadrático	1	0,0003	0,0003	0,02	0,89
		cúbico	1	0,0001	0,0001	0	0,9485
NS	água	linear	1	0,0453	0,0453	19,47	0,0001
		quadrático	1	0,0011	0,0011	0,48	0,4937
		cúbico	1	0	0	0	0,9645
NS	Ulvana	linear	1	0,0045	0,0045	1,88	0,1778
		quadrático	1	0,0003	0,0003	0,12	0,7269
		cúbico	1	0,0001	0,0001	0,02	0,8787
NT	água	linear	1	0,0147	0,0147	17,7	0,0001
		quadrático	1	0,001	0,001	1,19	0,2805
		cúbico	1	0	0	0,01	0,9428
NT	Ulvana	linear	1	0,0013	0,0013	3,18	0,0816
		quadrático	1	0,0001	0,0001	0,15	0,7051
		cúbico	1	0	0	0	0,9749
NTot	água	linear	1	0,5349	0,5349	9,1	0,0042
		quadrático	1	0	0	0	0,9908
		cúbico	1	0,0054	0,0054	0,09	0,7643
NTot	Ulvana	linear	1	0,0888	0,0888	4,2	0,0465
		quadrático	1	0,0017	0,0017	0,08	0,7814
		cúbico	1	0,0002	0,0002	0,01	0,9161

NP = nervura primária; NS = nervura secundária; NT = nervura terciária; NTot = nervura total; Trat. = tratamento; GL = grau de liberdade; SQ = soma de quadrados; QM = quadrado médio; F = valor de F; P>F probabilidade do teste F.

**Anexo 9.** Ajustes lineares para equações de retas de regressão das interações significativamente diferentes entre os cultivares de feijoeiro comum, Uirapuru e Mouro Graúdo, sobre o desenvolvimento do número de lesões necróticas de antracnose nos diferentes tipos de nervuras, dos folíolos centrais (efeito sistêmico) ao longo de 4 avaliações, 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4.

Variável	Trat	P>F	R <sup>2</sup>	d.m.p	“a”	P>t	“b”	P>t
NS	Água	<b>0,0095</b>	0,7008	0,023	-0,05277	0,2473	0,01375	<b>0,0095</b>
NS	Ulvana	-	-	-	0,0812	-	0	-
NTot	Água	<b>&lt;0,001</b>	0,9515	0,028	-0,07581	0,1717	0,04721	<b>&lt;0,001</b>
NTot	Ulvana	-	-	-	0,3374	-	0	-

NS = nervura secundária; NTot = nervura total; Trat. = tratamento; P>F probabilidade do teste F; R<sup>2</sup> = coeficiente de determinação; d.m.p = desvio médio padrão; “a” = intercepto; P>t = probabilidade de “a”; “b” = coeficiente angular; P>t = probabilidade de “b”.

**Anexo 10.** Comprimento (mm) de lesões necróticas de antracnose, nas nervuras primária, secundária, terciária e no comprimento total destas nervuras, em folíolos laterais (efeito local) de cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), Uirapuru (acima) e Mouro Graúdo (abaixo), pré-tratados com ulvana (10mg/mL), 6 e 3 dias antes da inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*, avaliada aos 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4.

Uirapuru*								
	8 dias		10 dias		12 dias		14 dias	
	água	Ulvana	água	Ulvana	água	Ulvana	água	Ulvana
<b>primária</b>	0,27	0,27	0,44	0,41	0,57	0,52	0,78	0,58
<b>secundária</b>	0,12	0,09	0,19	0,13	0,25	0,17	0,34	0,23
<b>terciária</b>	0,03	0,03	0,05	0,03	0,08	0,05	0,11	0,05
<b>total</b>	0,42	0,39	0,67	0,57	0,89	0,74	1,23	0,86

Mouro Graúdo*								
	8 dias		10 dias		12 dias		14 dias	
	água	Ulvana	água	Ulvana	água	Ulvana	água	Ulvana
<b>primária</b>	0,57	0,70	0,60	0,78	0,80	0,84	1,17	0,91
<b>secundária</b>	0,16	0,07	0,19	0,08	0,22	0,10	0,37	0,14
<b>terciária</b>	0,01	0,03	0,02	0,04	0,04	0,04	0,10	0,07
<b>total</b>	0,74	0,79	0,81	0,89	1,07	0,98	1,64	1,12

\* Média de seis repetições (4 folíolos por repetição). Lesões por centímetro de nervura.

**Anexo 11.** ANOVA de dados de pré-tratamentos com ulvana (10mg/mL), 6 e 3 dias antes da inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*, em folíolos laterais (efeito local) de cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), Uirapuru e Mouro Graúdo, sobre o desenvolvimento do comprimento de lesões necróticas de antracnose, nas nervuras primária, secundária, terciária e no comprimento total destas nervuras, avaliado aos 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4.

Nervura Primária				
F de Cultivares	GL	QME	F	P>F
cultivar	1	2,4241	3,20	0,0887
tratamento	1	0,0143	0,02	0,8921
cultivar/tratamento	1	0,0482	0,06	0,8033
tempo	3	0,7369	37,88	<b>&lt;0,0001</b>
tempo/cultivar	3	0,0165	0,85	0,3944
tempo/ tratamento	3	0,1232	6,33	<b>0,0124</b>
tempo/cultivar/trat	3	0,0178	0,92	0,3736

Nervura Secundária				
F de Cultivares	GL	QME	F	P>F
cultivar	1	0,0177	0,54	0,4718
tratamento	1	0,2552	7,77	<b>0,0114</b>
cultivar/tratamento	1	0,0309	0,94	0,3439
tempo	3	0,1125	68,70	<b>&lt;0,0001</b>
tempo/cultivar	3	0,0030	1,82	0,1537
tempo/ tratamento	3	0,0141	8,59	<b>&lt;0,0001</b>
tempo/cultivar/trat	3	0,0017	1,07	0,3694

Nervura Terciária				
F de Cultivares	GL	QME	F	P>F
cultivar	1	0,0022	0,44	0,5161
tratamento	1	0,0033	0,65	0,4293
cultivar/tratamento	1	0,0038	0,75	0,3970
tempo	3	0,0155	47,51	<b>&lt;0,0001</b>
tempo/cultivar	3	0,0004	1,24	0,3043
tempo/ tratamento	3	0,0029	9,05	<b>&lt;0,0001</b>
tempo/cultivar/trat	3	0,0001	0,25	0,8595

Nervura Total				
F de Cultivares	GL	QME	F	P>F
cultivar	1	1,8126	1,67	0,2107
tratamento	1	0,5087	0,47	0,5011
cultivar/tratamento	1	0,0057	0,01	0,9429
tempo	3	1,6658	54,44	<b>&lt;0,0001</b>
tempo/cultivar	3	0,0297	0,97	0,4125
tempo/ tratamento	3	0,3022	9,88	<b>&lt;0,0001</b>
tempo/cultivar/trat	3	0,0404	1,32	0,2762

F = teste de F; GL = Graus de liberdade; QME = Quadrado médio do erro; F = valor do teste de F; P>F = probabilidade.

**Anexo 12.** ANOVA de modelos linear, quadrático e cúbico de regressão de dados de pré-tratamentos com ulvana (10mg/mL), 6 e 3 dias antes da inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*, em folíolos laterais (efeito local) de cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), Uirapuru e Mouro Graúdo, sobre o desenvolvimento do comprimento de lesões necróticas de antracnose, nas nervuras primária, secundária, terciária e no comprimento total destas nervuras, avaliado aos 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4.

Variável	Trat.	Modelo	GL	SQ	QM	F	P>F
NP	água	linear	1	5,01E+09	5,01E+09	1,28	0,2648
		quadrático	1	0,5181	0,5181	0,01	0,9091
		cúbico	1	0,4439	0,4439	0,01	0,9158
NP	Ulvana	linear	1	7,86E+09	7,86E+09	3,4	0,0719
		quadrático	1	7,89E+08	7,89E+08	0,34	0,562
		cúbico	1	0,0198	0,0198	0	0,9768
NS	água	linear	1	0,2903	0,2903	24,56	0,0001
		quadrático	1	0,0149	0,0149	1,26	0,2675
		cúbico	1	0,0031	0,0031	0,27	0,6089
NS	Ulvana	linear	1	0,0696	0,0696	10,27	0,0025
		quadrático	1	0,0018	0,0018	0,27	0,6092
		cúbico	1	0	0	0,01	0,941
NT	água	linear	1	0,0455	0,0455	30,94	0,0001
		quadrático	1	0,0025	0,0025	1,73	0,1957
		cúbico	1	0	0	0	0,9808
NT	Ulvana	linear	1	0,0071	0,0071	4,82	0,0335
		quadrático	1	0,0003	0,0003	0,2	0,6549
		cúbico	1	0	0	0	0,9471
NTot	água	linear	1	6,83E+10	6,83E+10	12,27	0,0011
		quadrático	1	1,04E+10	1,04E+10	1,87	0,1786
		cúbico	1	0,1019	0,1019	0	0,9661
NTot	Ulvana	linear	1	1,82E+10	1,82E+10	6,22	0,0165
		quadrático	1	5,39E+08	5,39E+08	0,18	0,6699
		cúbico	1	0,2114	0,2114	0,01	0,9327

NP = nervura primária; NS = nervura secundária; NT = nervura terciária; NTot = nervura total; Trat. = tratamento; GL = grau de liberdade; SQ = soma de quadrados; QM = quadrado médio; F = valor de F; P>F probabilidade do teste F.

**Anexo 13.** Ajustes lineares para equações de retas de regressão das interações significativamente diferentes entre os cultivares de feijoeiro comum, Uirapuru e Mouro Graúdo, sobre o desenvolvimento do comprimento de lesões necróticas de antracnose nos diferentes tipos de nervuras, dos folíolos laterais (efeito local) ao longo de 4 avaliações, 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4.

Variável	Trat	P>F	R <sup>2</sup>	d.m.p	“a”	P>t	“b”	P>t
NP	Água	-	-	-	0,6510	-	0	-
NP	Ulvana	-	-	-	0,6266	-	0	-
NS	Água	<b>0,0002</b>	0,9173	0,0269	-0,15389	<b>0,0182</b>	0,03478	<b>0,0002</b>
NS	Ulvana	-	-	-	0,1255	-	0	-
NT	Água	<b>0,0017</b>	0,8278	0,0162	-0,09804	<b>0,0144</b>	0,01377	<b>0,0017</b>
NT	Ulvana	<b>0,0005</b>	0,8863	0,0050	-0,01823	0,0875	0,00545	<b>0,0005</b>
NTot	Água	<b>0,0029</b>	0,7958	0,1834	-0,61004	0,1102	0,14029	<b>0,0029</b>
NTot	Ulvana	-	-	-	0,7939	-	0	-

NP = nervura primária; NS = nervura secundária; NT = nervura terciária; NTot = nervura total; Trat. = tratamento; P>F probabilidade do teste F; R<sup>2</sup> = coeficiente de determinação; d.m.p = desvio médio padrão; “a” = intercepto; P>t = probabilidade de “a”; “b” = coeficiente angular; P>t = probabilidade de “b”.



**Anexo 14.** Comprimento (mm) de lesões necróticas de antracnose, nas nervuras primária, secundária, terciária e no comprimento total destas nervuras, em folíolos centrais (efeito sistêmico) de cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), Uirapuru (acima) e Mouro Graúdo (abaixo), pré-tratados com ulvana (10mg/mL), 6 e 3 dias antes da inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*, avaliada aos 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4.

Uirapuru*								
	8 dias		10 dias		12 dias		14 dias	
	água	Ulvana	água	Ulvana	água	Ulvana	água	Ulvana
<b>primária</b>	0,52	0,53	0,71	0,63	0,9	0,71	1,06	0,77
<b>secundária</b>	0,15	0,15	0,34	0,23	0,47	0,25	0,58	0,33
<b>terciária</b>	0,03	0,01	0,07 B	0,02	0,11	0,03	0,18	0,03
<b>total</b>	0,70	0,69	1,11	0,88	1,48	1,0	1,82	1,13

Mouro Graúdo*								
	8 dias		10 dias		12 dias		14 dias	
	água	Ulvana	água	Ulvana	água	Ulvana	água	Ulvana
<b>primária</b>	1,47	0,85	1,59	0,95	1,80	1,00	2,09	1,11
<b>secundária</b>	0,13	0,11	0,15	0,13	0,26	0,14	0,42	0,19
<b>terciária</b>	0,02	0,02	0,02	0,04	0,06	0,05	0,14	0,08
<b>total</b>	1,62	0,97	1,76	1,12	2,12	1,19	2,65	1,38

\* Média de seis repetições (2 folíolos por repetição). Lesões por centímetro de nervura.

**Anexo 15.** ANOVA de dados de pré-tratamentos com ulvana (10mg/mL), 6 e 3 dias antes da inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*, em folíolos centrais (efeito sistêmico) de cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), Uirapuru e Mourão Graúdo, sobre o desenvolvimento do comprimento de lesões necróticas de antracnose, nas nervuras primária, secundária, terciária e no comprimento total destas nervuras, avaliado aos 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4.

Nervura Primária				
F de Cultivares	GL	QME	F	P>F
cultivar	1	9,5003	2,15	0,1577
tratamento	1	4,8331	1,10	0,3077
cultivar/tratamento	1	2,3454	0,53	0,4743
tempo	3	0,7668	29,17	<b>&lt;0,0001</b>
tempo/cultivar	3	0,0104	0,40	0,7557
tempo/ tratamento	3	0,1328	5,05	<b>0,0035</b>
tempo/cultivar/trat	3	0,0039	0,15	0,9309

Nervura Secundária				
F de Cultivares	GL	QME	F	P>F
cultivar	1	0,3607	4,85	<b>0,0396</b>
tratamento	1	0,3553	4,77	<b>0,0410</b>
cultivar/tratamento	1	0,0118	0,16	0,6952
tempo	3	0,2598	35,75	<b>&lt;0,0001</b>
tempo/cultivar	3	0,0206	2,83	<b>0,0457</b>
tempo/ tratamento	3	0,0637	8,77	<b>&lt;0,0001</b>
tempo/cultivar/trat	3	0,0048	0,66	0,5806

Nervura Terciária				
F de Cultivares	GL	QME	F	P>F
cultivar	1	0,0013	0,16	0,6916
tratamento	1	0,0450	5,72	<b>0,0268</b>
cultivar/tratamento	1	0,0203	2,57	0,1243
tempo	3	0,0343	27,10	<b>&lt;0,0001</b>
tempo/cultivar	3	0,0009	0,71	0,5496
tempo/ tratamento	3	0,0115	9,10	<b>&lt;0,0001</b>
tempo/cultivar/trat	3	0,0011	0,86	0,4667

Nervura Total				
F de Cultivares	GL	QME	F	P>F
cultivar	1	5,9830	1,21	0,2835
tratamento	1	9,0403	1,84	0,1906
cultivar/tratamento	1	1,6399	0,33	0,5704
tempo	3	2,4554	53,60	<b>&lt;0,0001</b>
tempo/cultivar	3	0,0459	1,00	0,3980
tempo/ tratamento	3	0,5187	11,32	<b>&lt;0,0001</b>
tempo/cultivar/trat	3	0,0180	0,39	0,7582

F = teste de F; GL = Graus de liberdade; QME = Quadrado médio do erro; F = valor do teste de F; P>F = probabilidade.

**Anexo 16.** ANOVA de modelos linear, quadrático e cúbico de regressão de dados de pré-tratamentos com ulvana (10mg/mL), 6 e 3 dias antes da inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*, em folíolos centrais (efeitosistêmico) de cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), Uirapuru e Mouro Graúdo, sobre o desenvolvimento do comprimento de lesões necróticas de antracnose, nas nervuras primária, secundária, terciária e no comprimento total destas nervuras, avaliado aos 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4.

Variável	Trat.	Modelo	GL	SQ	QM	F	P>F
NP	água	linear	1	2,68E+10	2,68E+10	1,32	0,2574
		quadrático	1	0,5202	0,5202	0	0,9599
		cúbico	1	0,0086	0,0086	0	0,9948
NP	Ulvana	linear	1	4,59E+09	4,59E+09	0,61	0,4397
		quadrático	1	0,8008	0,8008	0,01	0,9184
		cúbico	1	5,09E+08	5,09E+08	0,07	0,7963
NS Ur	água	linear	1	0,6021	0,6021	22,34	0,0001
		quadrático	1	0,009	0,009	0,33	0,5707
		cúbico	1	0,0006	0,0006	0,02	0,8875
NS Ur	Ulvana	linear	1	0,0906	0,0906	3,45	0,0781
		quadrático	1	0	0	0	0,9998
		cúbico	1	0,0028	0,0028	0,11	0,7456
NS MG	água	linear	1	0,2915	0,2915	7,45	0,0129
		quadrático	1	0,0271	0,0271	0,69	0,4147
		cúbico	1	0,0007	0,0007	0,02	0,8984
NS MG	Ulvana	linear	1	0,0209	0,0209	5,34	0,0316
		quadrático	1	0,0011	0,0011	0,29	0,596
		cúbico	1	0,0003	0,0003	0,08	0,7757
NT	água	linear	1	0,1181	0,1181	23,92	0,0001
		quadrático	1	0,0099	0,0099	2	0,1645
		cúbico	1	0,0001	0,0001	0,01	0,9094
NT	Ulvana	linear	1	0,0092	0,0092	9,21	0,004
		quadrático	1	0,0001	0,0001	0,14	0,7081
		cúbico	1	0,0001	0,0001	0,09	0,7685
NTot	água	linear	1	6,23E+10	6,23E+10	2,68	0,109
		quadrático	1	8,08E+09	8,08E+09	0,35	0,5589
		cúbico	1	2,01E+09	2,01E+09	0,09	0,7701
NTot	Ulvana	linear	1	6,12E+09	6,12E+09	0,64	0,4294
		quadrático	1	2,72E+09	2,72E+09	0,28	0,5979
		cúbico	1	1,17E+09	1,17E+09	0,12	0,7294

NP = nervura primária; NS = nervura secundária; NT = nervura terciária; NTot = nervura total; Ur = cultivar Uirapuru; MG = cultivar Mouro Graúdo; Trat. = tratamento; GL = grau de liberdade; SQ = soma de quadrados; QM = quadrado médio; F = valor de F; P>F probabilidade do teste F.

**Anexo 17.** Ajustes lineares para equações de retas de regressão das interações significativamente diferentes entre os cultivares de feijoeiro comum, Uirapuru e Mouro Graúdo, sobre o desenvolvimento do comprimento de lesões necróticas de antracnose nos diferentes tipos de nervuras, dos folíolos centrais (efeito sistêmico) ao longo de 4 avaliações, 8, 10, 12 e 14 dai, no estágio fenológico V4.

Variável	Trat	P>F	R <sup>2</sup>	d.m.p	“a”	P>t	“b”	P>t
NP	Água	-	-	-	1,2678	-	0	-
NP	Ulvana	-	-	-	0,8190	-	0	-
NS Ur	Água	<b>0,0078</b>	0,9844	0,0281	-0,39351	<b>0,0308</b>	0,07083	<b>0,0078</b>
NS Ur	Ulvana	<b>0,0154</b>	0,9695	0,0154	-0,06021	0,2596	0,02746	<b>0,0154</b>
NS MG	Água	<b>0,0445</b>	0,9130	0,0481	-0,03013	0,1301	0,04929	<b>0,0445</b>
NS MG	Ulvana	<b>0,0332</b>	0,9346	0,0110	-0,00364	0,9082	0,01319	<b>0,0332</b>
NT	Água	-	-	-	0,0782	-	0	-
NT	Ulvana	-	-	-	0,0349	-	0	-
NTot	Água	-	-	-	1,6592	-	0	-
NTot	Ulvana	-	-	-	1,0455	-	0	-

NP = nervura primária; NS = nervura secundária; NT = nervura terciária; NTot = nervura total; Ur = cultivar Uirapuru; MG = cultivar Mouro Graúdo; Trat. = tratamento; P>F probabilidade do teste F; R<sup>2</sup> = coeficiente de determinação; d.m.p = desvio médio padrão; “a” = intercepto; P>t = probabilidade de “a”; “b” = coeficiente angular; P>t = probabilidade de “b”.

**Anexo 18.** Germinação de conídios de *Colletotrichum lindemuthianum*, avaliada, em células de folíolos laterais (efeito local) de três cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), Uirapuru, Mouro Graúdo , previamente tratados com ulvana (10mg/mL), 6 e 3 dias antes da inoculação com, e Valente, ao microscópio óptico (480x), 48 hai, no estágio fenológico V4.

Cultivar	Trat	Germinação de conídios de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i>						
		TG <sup>(1)</sup>	TG+Ap <sup>(1)</sup>	$\chi^2$	P	TCG <sup>(1)</sup>	$\chi^2$	P
Uirapuru	água	101	96	27,1035	*	197	3,0183	ns
M.Graúdo	água	116	88			204		
Valente	água	58	126			184		
Uirapuru	água	101	96	48,621	*	197	23,253	*
Uirapuru	ulvana	37	105			142		
M.Graúdo	água	116	88	37,547	*	204	58,267	*
M.Graúdo	ulvana	27	88			115		

1 = Soma de três repetições (100 conídios em cada repetição)

$\chi^2$  = teste não-paramétrico de qui-quadrado;

\* = P<0,01; ns = não significativo.

Legenda: Trat= tratamento; TG= tubo Germinativo; TG+Ap= tubo Germinativo com apressório;

TCG = total de conídios germinados;